



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado
Curso 2016 - 2017

Virus Zika y microcefalia
Zika Virus and microcephaly

Autora:

Leire Hernández Martínez

Director:

Dr. Arturo Vera Gil

Facultad de Medicina
Universidad de Zaragoza

ÍNDICE

RESUMEN / ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
○ Virus ZIKA: historia, epidemiología, transmisión y aspectos clínicos	
○ Desarrollo embriológico del prosencéfalo o cerebro anterior	
○ Desarrollo embriológico del cráneo	
METODOLOGÍA: MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
RESULTADOS.....	19
○ Anomalías congénitas del cerebro: microcefalia	
○ Evidencia de la posible asociación causal entre el virus Zika y la microcefalia: criterios de Shepard	
CONCLUSIONES.....	31
BIBLIOGRAFÍA.....	33

RESUMEN

Introducción: Desde el brote de virus Zika ocurrido en América Latina en 2015, se ha observado un aumento repentino en el número de casos de microcefalia en lactantes de mujeres que contrajeron el virus estando embarazadas, así como de otros síndromes neurológicos. El 1 de febrero de 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS), declaró la epidemia de virus Zika una emergencia de salud pública de interés internacional.

Objetivo: Describir las principales causas y características de la microcefalia, así como la evidencia científica existente sobre la posible asociación causal entre el virus Zika y la misma.

Material y métodos: Este trabajo se presenta como una revisión bibliográfica de artículos científicos y publicaciones relacionados con la microcefalia y el virus Zika, buscados principalmente en las bases de datos Pubmed, Medscape, Crossref, Google académico y en varios libros.

Resultados: Las infecciones prenatales son una posible causa de microcefalia ampliamente descrita en la literatura. Para determinar si existe una relación causal entre el virus Zika y la microcefalia se han utilizado los siete criterios de Shepard, específicos para evaluar teratógenos potenciales. La evidencia usada para explicar este vínculo incluye la temporalidad entre la infección y la anomalía observada, la plausibilidad biológica y la identificación de ARN del virus Zika en el tejido cerebral de fetos y neonatos afectados.

Conclusiones: Se han acumulado pruebas suficientes que apoyan la hipótesis inicial de que “la infección prenatal por el virus Zika es una causa de microcefalia y otras anomalías cerebrales”. Así, una vez conocida esta asociación, nuestros esfuerzos futuros deberán centrarse en investigar y dar respuesta a otras muchas preguntas que resultarán críticas en la prevención de la infección congénita por el virus Zika.

Palabras clave: “zika virus”, “microcephaly”, “virus microcephaly”, “zika virus microcephaly”.

ABSTRACT

Introduction: Since the outbreak of Zika virus in Latin America in 2015, a sudden increase in the number of microcephaly cases has been observed in infants of women who were pregnant when they contracted the virus, as well as other severe neurological syndromes in adults. On 1 February 2016, the World Health Organization (WHO) declared the Zika virus epidemic a Public Health Emergency of International Concern.

Objective: To describe the main causes and characteristics of microcephaly, as well as existing scientific evidence about the possible causal association between the Zika virus and the same.

Material and methods: This work is presented as a bibliographical review of scientific articles and publications related to microcephaly and Zika virus, mainly searched in Pubmed, Medscape, Crossref, Google Academic databases and in books.

Results: Prenatal infections are a possible cause of microcephaly widely described in literature. To determine whether Zika virus infection during pregnancy causes these adverse outcomes, the seven criteria of Shepard have been used to evaluate potential teratogens. The evidence used to explain this link includes the temporality between the infection and the observed anomaly, biological plausibility and identification of RNA of the Zika virus in the brain tissue of affected fetuses and neonates.

Conclusions: Enough evidence has been accumulated to support the initial hypothesis: "prenatal infection with Zika virus is a cause of microcephaly and other brain abnormalities." Thus, once this association is established, our future efforts should focus on researching and giving answer to other questions that may be critical in terms of prevention of congenital infection by Zika virus.

Key words: "zika virus", "microcephaly", "microcephaly virus", "zika virus microcephaly".

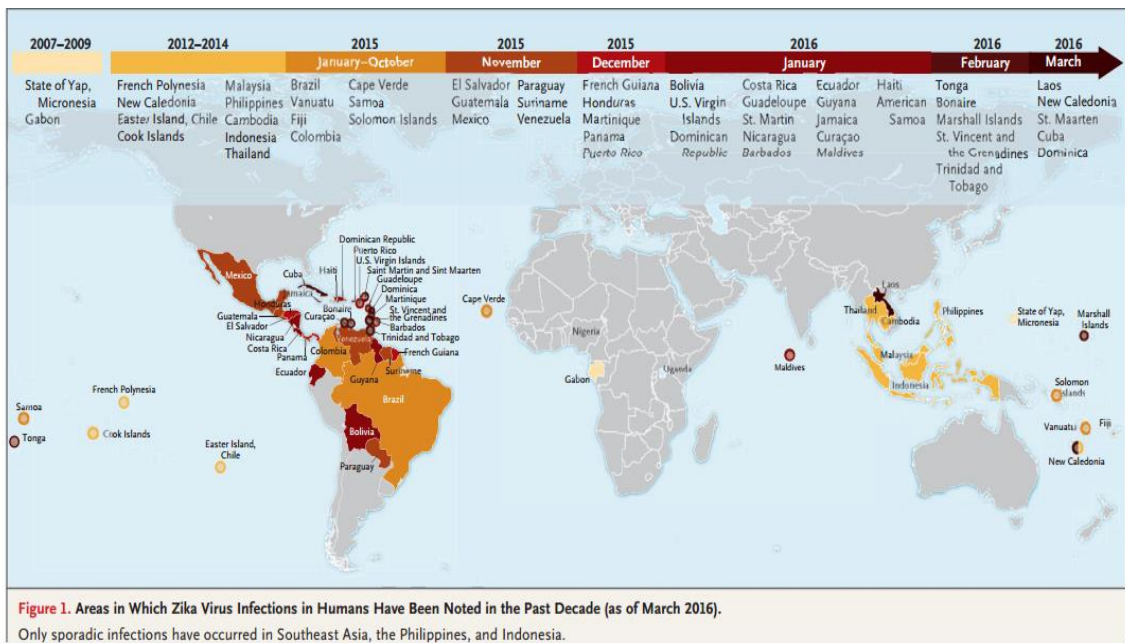
INTRODUCCIÓN

El virus Zika es un flavivirus perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Fue aislado por primera vez en 1947 en monos Rhesus, en el bosque de Zika, Uganda. Inicialmente, no había indicios de que el virus causara enfermedad en humanos. No obstante, un estudio serológico realizado a residentes de múltiples áreas de Uganda reveló una seroprevalencia del 6,1% de anticuerpos contra el virus Zika, lo que sugirió que la infección humana era frecuente pero leve. (1)

La enfermedad humana causada por el virus Zika fue reconocida por primera vez en Nigeria en 1953, cuando se confirmó la infección viral en tres personas enfermas. A pesar de su reconocimiento, en los siguientes 57 años solamente se notificaron 13 casos de infección por el virus Zika en algunos países de África y Asia. Así, el brote de 2007 en islas del Estado de Yap (Micronesia) con 5000 infecciones estimadas en una población total de 6700 habitantes fue una sorpresa. Posteriormente, entre 2013 y 2014 tuvo lugar un brote en la Polinesia Francesa. Aunque la mayoría de los casos tuvieron manifestaciones de enfermedad similares a las de Yap, también se observaron y documentaron casos de síndrome de Guillain-Barré. Sucesivos brotes ocurrieron en otras islas del Pacífico incluyendo Nueva Caledonia (en 2014), Isla de Pascua (2014), Islas Cook (2014), Samoa (2015) y Samoa americana (2016). (1)

El virus Zika fue identificado por primera vez en América en marzo de 2015, con un brote ocurrido en Bahía, Brasil. Desde el mes de noviembre de 2015 la epidemia fue extendiéndose a casi todos los países de América Latina. Investigadores en Brasil notificaron un incremento de niños nacidos con microcefalia en las mismas zonas donde se notificó la infección por el virus Zika. Posteriormente, investigadores en la Polinesia Francesa también identificaron retrospectivamente casos de anomalías fetales, incluyendo la microcefalia, después del brote de Zika ocurrido en el país. (1)

El 1 de febrero de 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la epidemia de Zika como una emergencia de salud pública de interés internacional.

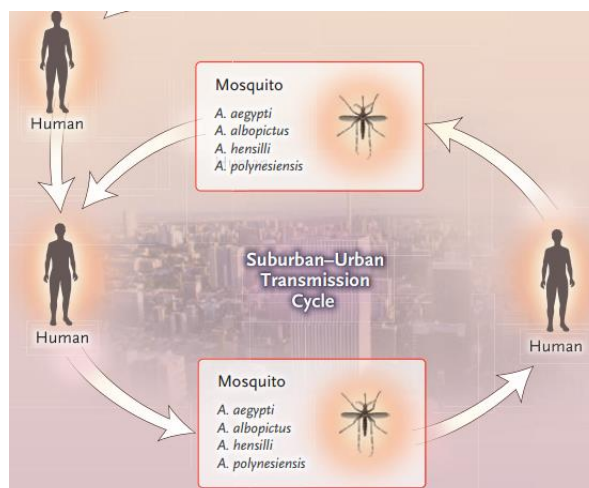


Transmisión del virus Zika

El virus Zika se transmite por la picadura del mosquito *Aedes*, relacionado también con la transmisión de los virus del dengue y chikunguya. En ambientes urbanos y suburbanos, el virus Zika se transmite en un ciclo de transmisión humano-mosquito-humano. Numerosas especies del género *Aedes* pueden actuar como vectores del virus: *A. aegypti* y, en menor medida, *A. albopictus* se han relacionado con casi todos los brotes conocidos de virus Zika, aunque otras dos especies, *A. hensilli* y *A. polynesiensis* también se han relacionado con los brotes en Yap y Polinesia Francesa, respectivamente. Tanto *A. aegypti* como *A. albopictus* pican principalmente durante el día y están ampliamente distribuidos en todo el mundo tropical y subtropical. (1)

Raramente se ha identificado el virus Zika en otras especies de mosquitos, como *A. unilineatus*, *Anopheles coustani* y *Mansonia uniformis*. Este hecho sugiere que mosquitos de otros géneros tienen baja capacidad vectorial.

(1)



Actualmente, existe evidencia que indica que el virus Zika puede transmitirse de la madre al feto durante el embarazo, ya que se ha identificado ARN de virus Zika en el líquido amniótico de madres cuyos fetos tuvieron anomalías cerebrales detectadas por ultrasonografía, y también en las placentas de niños nacidos con microcefalia y fallecidos poco tiempo después del nacimiento, así como en los tejidos de abortos espontáneos. (1)

También se ha descrito la transmisión sexual como una posible vía de infección por el virus Zika pero no se han determinado los factores de riesgo ni la duración del riesgo de transmisión sexual. Se han identificado partículas víricas replicativas, así como ARN viral en espermatozoides, y se ha detectado ARN viral hasta 62 días después de la aparición de los síntomas. (1)

Aunque la transmisión del virus Zika a través de una transfusión de sangre todavía no ha sido notificada, es probable que ocurra, dada la transmisión de otros flavivirus relacionados a través de esta vía. Durante el brote del virus Zika en la Polinesia Francesa, el 3% de las muestras de sangre donadas resultaron positivas para el virus Zika mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR). (1)

Aspectos clínicos

El período de incubación del virus Zika es desconocido, pero si es similar al de otros flavivirus, se espera que sea generalmente menor de una semana. La viremia se detecta cuando los síntomas están presentes, pero no después. (1)

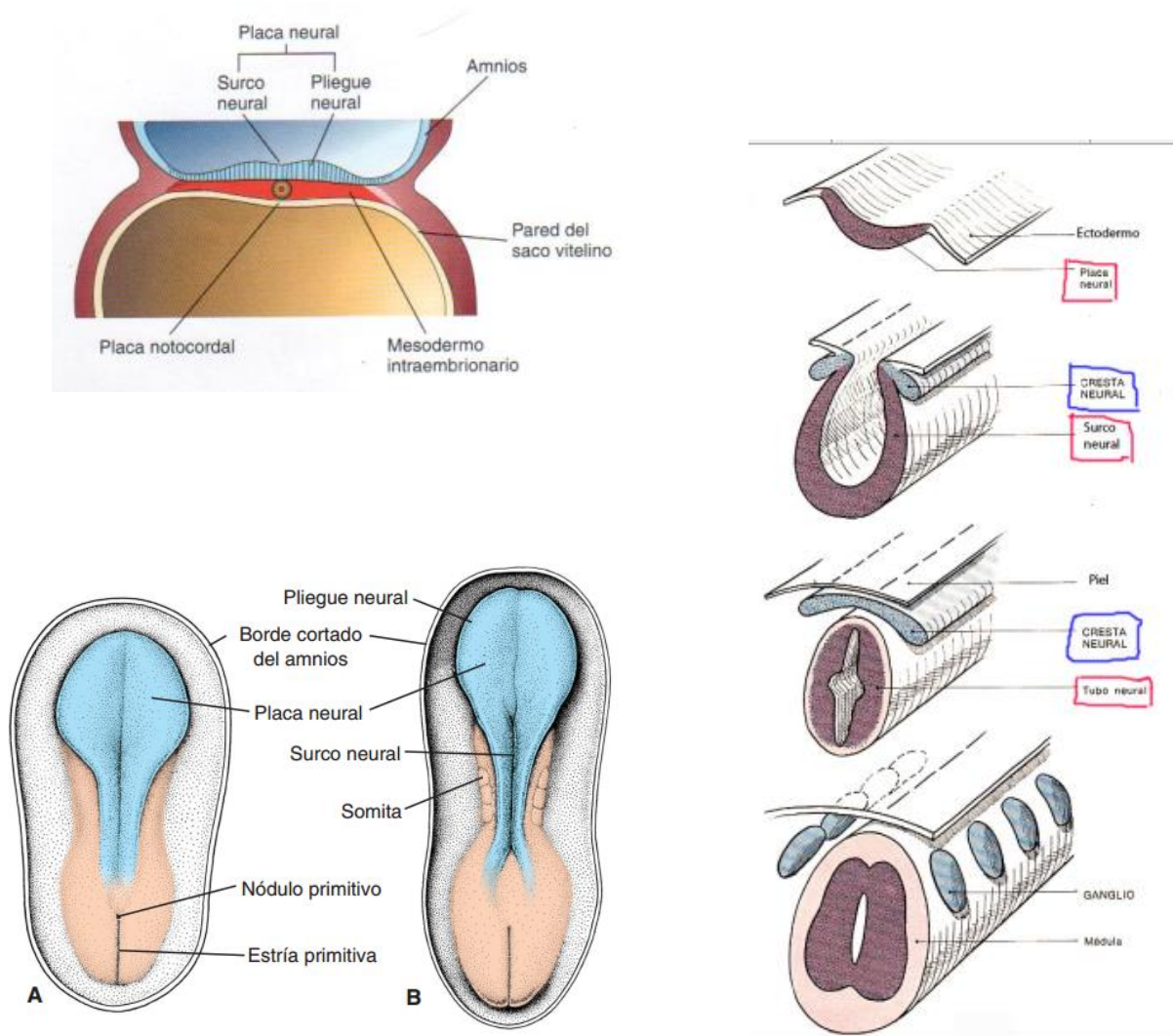
Los síntomas más comunes incluyen: rash maculopapular (90% de los pacientes), fiebre (65%), artritis o artralgia (65%), conjuntivitis no purulenta (55%), mialgia (48%), cefalea (45%), dolor retroorbitario (39%), edema (19%) y vómitos (10%). El rash suele ser pruriginoso y la fiebre, cuando está presente, suele ser de leve duración y autolimitada en el tiempo. Otros síntomas que se han observado son: hematospermia, hinchazón de manos y tobillos y hemorragia subcutánea. (1)

Los síntomas más graves afectan a la esfera neurológica: síndrome de Guillain-Barré en adultos y anomalías congénitas en fetos, principalmente microcefalia, en la que centraremos nuestra atención en el presente trabajo.

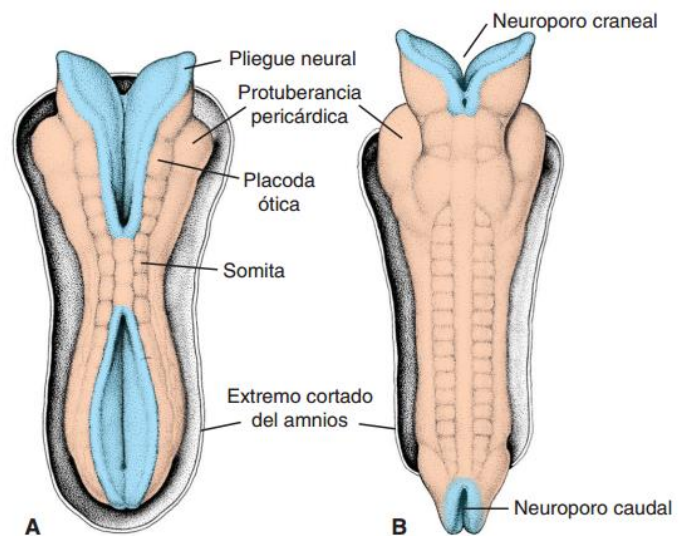
DESARROLLO EMBRIOLÓGICO DEL PROENCÉFALO O CEREBRO ANTERIOR

El sistema nervioso central (SNC) aparece al inicio de la tercera semana como una placa de ectodermo engrosado en forma de zapatilla: la **placa neural**, situada en la región medio-dorsal delante del nódulo primitivo. Sus bordes laterales se elevan para constituir los pliegues neurales, acercándose entre sí en la línea media para finalmente fusionarse formando el **tubo neural**.

(2)



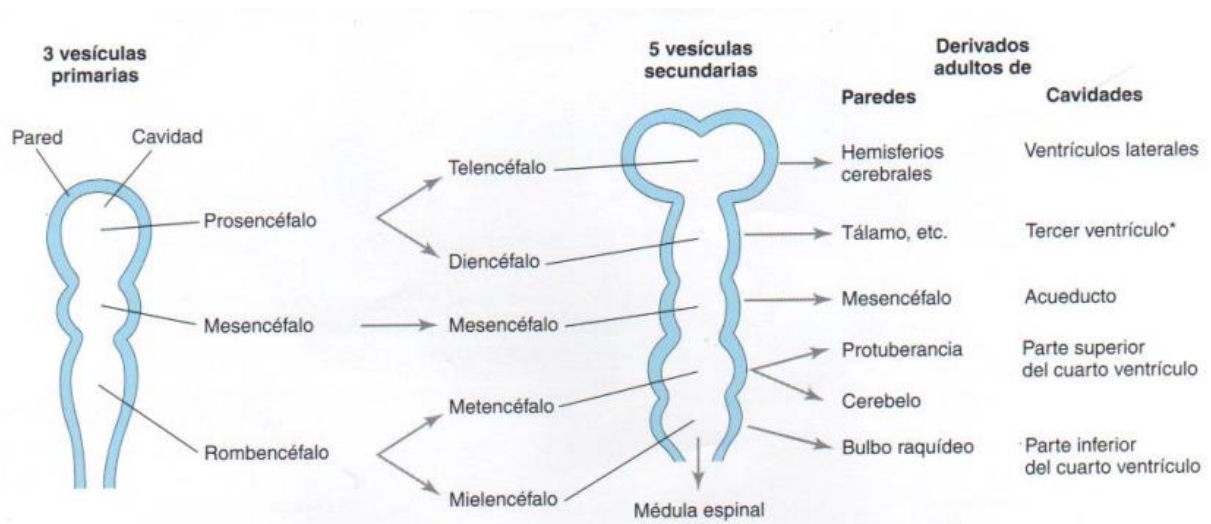
La fusión empieza en la región cervical y procede en direcciones cefálica y caudal. Una vez iniciada la fusión, los extremos abiertos del tubo neural forman los **neuroporos craneal y caudal** que se comunican con la cavidad amniótica que lo reviste. El cierre definitivo del neuroporo craneal se realiza en la fase de 18 a 20 somitas (día 25); el cierre del neuroporo caudal tiene lugar aproximadamente 3 días después. (2)



El extremo cefálico del tubo neural muestra tres dilataciones o **vesículas cerebrales primarias**, a partir de las cuales se desarrolla el encéfalo:

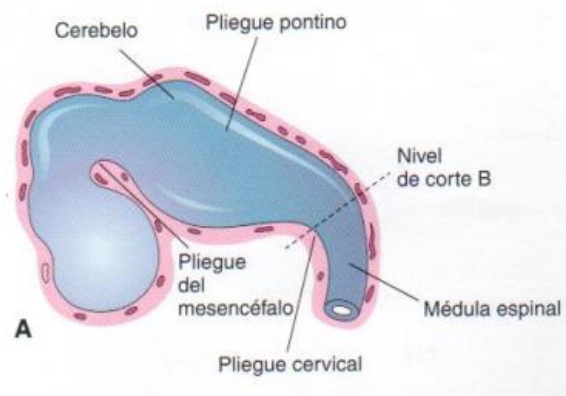
- 1) el **prosencefalo** o **cerebro anterior**
- 2) el **mesencefalo** o **cerebro medio**
- 3) el **rombencefalo** o **cerebro posterior**

A lo largo de la quinta semana, el prosencefalo se divide parcialmente en dos vesículas cerebrales secundarias, el **telencefalo** y el **diencéfalo**; el mesencefalo no se divide; el romboencefalo se divide parcialmente en el **metencefalo** y el **mielencefalo**; por consiguiente, hay cinco vesículas cerebrales secundarias. (3)



La luz de la médula espinal –el **canal central**– se continúa con la de las vesículas cerebrales. La cavidad del rombencéfalo es el **cuarto ventrículo**, la del diencefalo es el **tercer ventrículo** y las de los hemisferios cerebrales son los **ventrículos laterales**. La luz del mesencéfalo conecta el tercer y cuarto ventrículos. Esta luz se hace muy estrecha y se conoce como **acueducto de Silvio**. Los ventrículos laterales se comunican con el tercero a través de los **agujeros interventriculares de Monro**. (2)

Durante la cuarta semana, el encéfalo embrionario crece con rapidez y se dobla ventralmente con el pliegue de la cabeza. Este proceso produce un **pliegue cerebral medio** en la región del mesencéfalo y otro **pliegue cervical** en la unión del romboencéfalo y la médula espinal. Posteriormente, el crecimiento desigual del encéfalo entre estos pliegues produce el **pliegue pontino** en dirección opuesta. Este pliegue comporta el adelgazamiento del techo del prosencéfalo. (3)



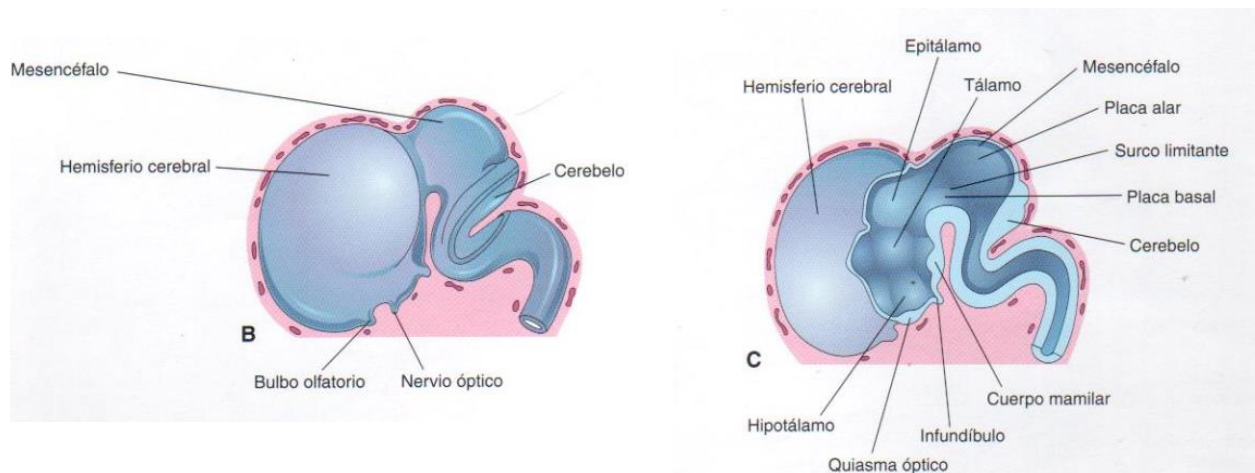
Prosencéfalo: cerebro anterior

A medida que tiene lugar el cierre del neuroporo craneal, aparecen dos evaginaciones laterales, las vesículas ópticas, una a cada lado del prosencéfalo. Estas vesículas constituyen los rudimentos de la retina y de los nervios ópticos. En poco tiempo, surge un segundo par de divertículos: las **vesículas telencefálicas**, que son los primordios de los **hemisferios cerebrales**, y sus cavidades se convierten en los **ventrículos laterales**. La parte rostral o anterior del prosencéfalo, incluyendo los primordios de los hemisferios cerebrales, es el **telencéfalo**, mientras que la parte caudal o

posterior es el **diencéfalo**. Las cavidades del telencéfalo y el diencéfalo participan en la formación del **tercer ventrículo**, aunque la cavidad de este último lo hace en mayor medida. (3)

Diencéfalo

En las paredes laterales del tercer ventrículo se desarrollan tres tumefacciones que posteriormente se convierten en el epitálamo, el tálamo y el hipotálamo. El **tálamo** se encuentra separado del epitálamo por el surco epitalámico y del hipotálamo por el surco hipotalámico. Éste último no es una continuación del surco limitante hacia el prosencéfalo y, de forma análoga a aquél, tampoco divide áreas motoras y sensitivas. El tálamo se desarrolla con rapidez en cada lado y protruye hacia la cavidad del tercer ventrículo, reduciéndola a una estrecha hendidura. Los tálamos se acercan y fusionan en la línea media en el 70% de los cerebros, formando un puente de sustancia gris a lo largo del tercer ventrículo, la adhesión intertalámica. (3)



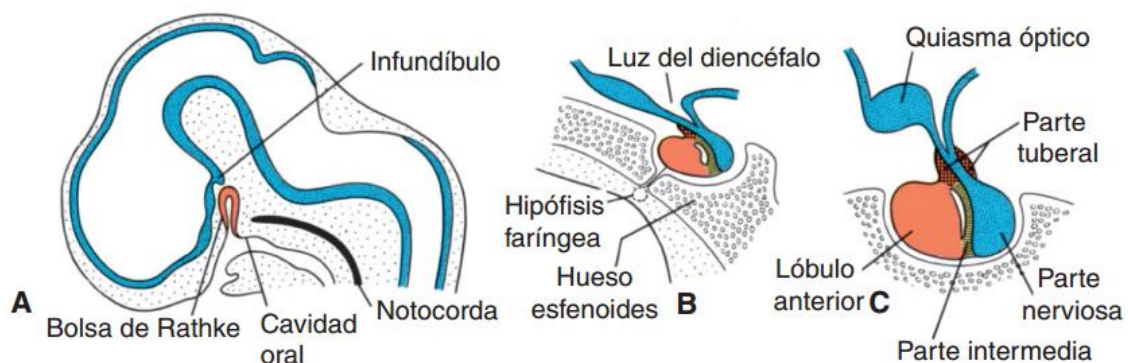
El **hipotálamo**, se diferencia en un número de áreas nucleares que regulan las funciones viscerales, entre las cuales están el sueño, la digestión, la temperatura corporal y la conducta emotiva. Uno de estos grupos, el cuerpo mamilar, forma una protuberancia diferenciada sobre la superficie ventral del hipotálamo a cada lado de la línea media. (2)

El **epitálamo** se desarrolla desde el techo y la porción dorsal de la pared lateral del diencéfalo. Inicialmente, las tumefacciones epitalámicas son de gran tamaño, pero más tarde se hacen relativamente pequeñas. La parte más caudal de la placa del techo se convierte en el **cuerpo pineal o epífisis**. (3)

La **hipófisis o glándula pituitaria** es de origen ectodérmico, pero se desarrolla a partir de dos partes totalmente distintas:

- 1) una prominencia ectodérmica del estomodeo (cavidad oral primitiva), situada justo delante de la membrana bucofaríngea: la **bolsa de Rathke**
- 2) una extensión descendiente del diencéfalo: el **infundíbulo**.

Cuando el embrión tiene alrededor de 3 semanas de vida, la bolsa de Rathke aparece como una evaginación de la cavidad oral para crecer luego dorsalmente hacia el infundíbulo. Hacia el final del segundo mes, pierde su conexión con la cavidad oral y entonces entra en contacto estrecho con el infundíbulo. Durante el desarrollo ulterior, las células en la pared anterior de la bolsa de Rathke aumentan con rapidez constituyendo el **lóbulo anterior de la hipófisis, o adenohipófisis** (parte glandular). Una extensión pequeña de este lóbulo –la **parte tuberal**– crece a lo largo del tallo del infundíbulo y acaba por rodearlo. La pared posterior de la bolsa de Rathke se convierte en la **parte intermedia** de poca importancia entre los seres humanos. El infundíbulo da origen al tallo y a la parte nerviosa, llamada también **lóbulo posterior de la hipófisis** (neurohipófisis). Está compuesta por células de neuroglia. Contiene además varias fibras nerviosas provenientes del área hipotalámica. (2)

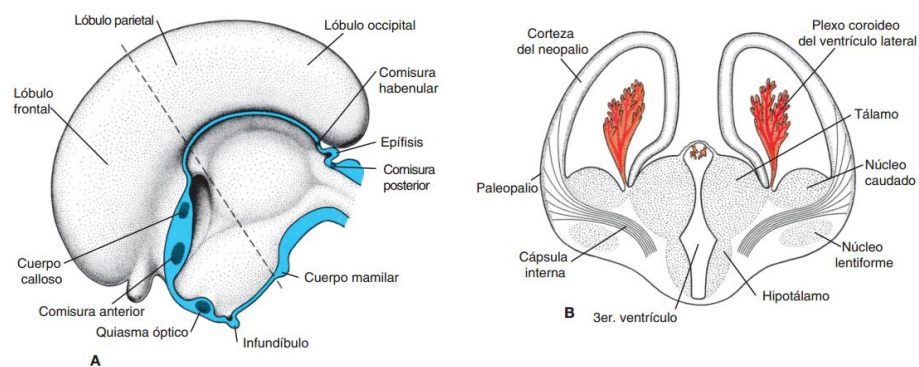
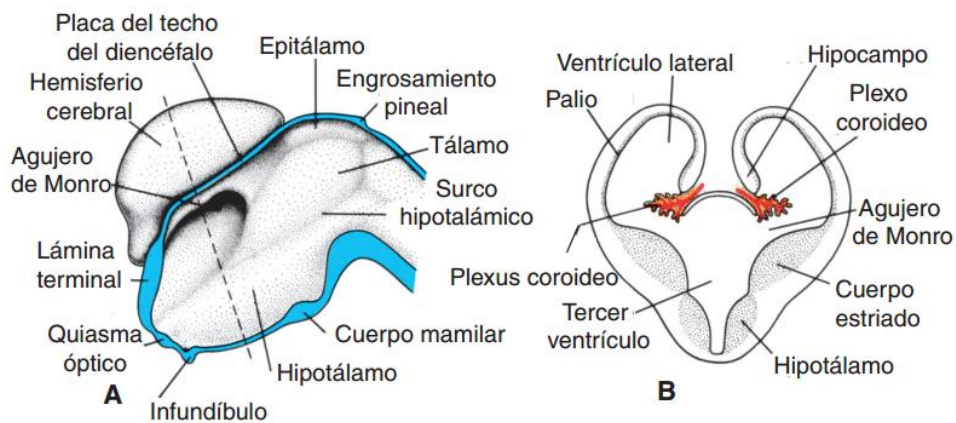


Telencéfalo

El telencéfalo, la parte más rostral de las vesículas cerebrales, consta de dos prominencias laterales, los **hemisferios cerebrales**, y de una parte media, la **lámina terminal**. Las cavidades de los hemisferios, llamadas **ventrículos laterales**, se comunican con la luz del diencéfalo a través de los **agujeros interventriculares de Monro**. (2)

Los hemisferios cerebrales aparecen al iniciarse la quinta semana del desarrollo como evaginaciones bilaterales en la pared lateral del prosencéfalo. Hacia la mitad del segundo mes, la parte basal de los hemisferios (es decir, la parte que inicialmente formó la extensión anterior del tálamo) empieza a crecer y penetra en la luz tanto del ventrículo lateral como en el suelo del agujero de Monro. En secciones transversales la región de crecimiento rápido tiene un aspecto estriado y por tanto se conoce como **cuerpo estriado**. (2)

En la región donde el hemisferio se une al techo del diencefalo, la pared no puede crear neuroblastos y se mantiene muy fina. Aquí, la pared hemisférica constará de una sola capa de células endimarias recubiertas con mesénquima vascular para formar juntas el **plexo coroideo**, que se introduce en el ventrículo lateral sobre la **fisura coroidea** ante el crecimiento desproporcionado de varias partes del hemisferio. Justo por arriba de la fisura, la pared del hemisferio se engrosa para crear el **hipocampo**, cuya función primaria es el olfato, y penetra en el ventrículo lateral. (2)



Con la posterior expansión, los hemisferios cubren la cara lateral del diencéfalo, el mesencéfalo y la parte cefálica del metencéfalo. El cuerpo estriado, se divide en dos partes: una parte dorsomedial, el núcleo caudado, y una parte ventrolateral, el núcleo lentiforme. Esta división se lleva a cabo mediante un haz de fibras de axones que se conoce como **cápsula interna**. Al mismo tiempo, la pared medial del hemisferio y la pared lateral del diencéfalo se fusionan y el núcleo caudado y el tálamo se acercan más entre sí. (2)

El crecimiento continuo de los hemisferios cerebrales en las direcciones anterior, dorsal e inferior resulta en la formación de los **lóbulos frontal, temporal y occipital**. El suelo de cada hemisferio se expande con mayor lentitud que sus delgadas paredes corticales, ya que contiene el cuerpo estriado de tamaño relativamente grande; por consiguiente, los hemisferios cerebrales adquieren forma de C. El crecimiento y curvatura de los hemisferios afecta también a la forma de los ventrículos laterales, que se convierten en cavidades en forma aproximada de C rellenas de LCR (3). El área entre los lóbulos frontal y temporal se deprime y recibe el nombre de **ínsula**. Esta región es cubierta o englobada posteriormente por los lóbulos adyacentes y en el momento del parto ya está casi cubierta por completo. Durante la última parte de la vida fetal, la superficie de los hemisferios cerebrales crece tan rápidamente que en su superficie pronto aparecen muchas circunvoluciones separadas por fisuras y surcos. (2)

La **corteza cerebral** se desarrolla a partir del palio, que tiene dos regiones:

- 1) el *paleopalio* o *arquipalio*, justo lateral al cuerpo estriado
- 2) el *neopalio*, entre el hipocampo y el paleopalio

En el neopalio oleadas de neuroblastos migran a la posición subpial para diferenciarse luego en neuronas maduras. Cuando llega la siguiente oleada de neuroblastos, éstos migran cruzando las capas previamente formadas de células hasta alcanzar la posición subpial. Así pues, los neuroblastos producidos en forma temprana ocupan una posición profunda en la corteza, mientras que los producidos de manera tardía ocuparán una posición más superficial. En el momento del parto, la corteza tiene un aspecto estratificado debido a la diferenciación de las células en capas. La corteza motora contiene un gran número de células piramidales, y en las áreas sensitivas destacan células granulares. (2)

A medida que se desarrolla la corteza cerebral, numerosos haces de fibras, las **comisuras**, conectan entre sí áreas correspondientes de los hemisferios cerebrales. La más importante de ellas es la **lámina terminal**, el extremo rostral del prosencéfalo, constituyendo la ruta natural desde uno a otro hemisferio. Las primeras comisuras que se forman, la **comisura anterior** y la **comisura del hipocampo**, son haces pequeños de fibras que conectan partes cerebrales antiguas desde el punto de vista filogenético. La comisura anterior conecta el bulbo olfatorio y áreas relacionadas de un hemisferio con las del lado opuesto. La comisura del hipocampo conecta las formaciones del hipocampo. La comisura cerebral más grande es el cuerpo calloso, que conecta áreas neocorticales. En un principio, el cuerpo calloso se encuentra en la lámina terminal, pero a medida que la corteza crece se le añaden fibras y como consecuencia de ello, se extiende de forma gradual más allá de la lámina terminal. Aparte de las tres comisuras que se desarrollan en la lámina terminal aparecen otras tres. Dos de ellas, las **comisuras posterior** y la **habenular** se localizan justo debajo y en posición rostral con el tallo de la glándula pineal. La tercera, el **quiasma óptico**, que aparece en la pared rostral del diencefalo, contiene fibras provenientes de las mitades mediales de las retinas. (3)

DESARROLLO EMBRIOLÓGICO DEL CRÁNEO

El crecimiento craneal está íntimamente ligado al crecimiento cerebral, puesto que el crecimiento de la bóveda craneal se debe en gran parte a la presión del encéfalo en desarrollo. Así, un desarrollo cerebral deficiente va a condicionar la presencia de una **microcefalia por microencefalia**. (4)

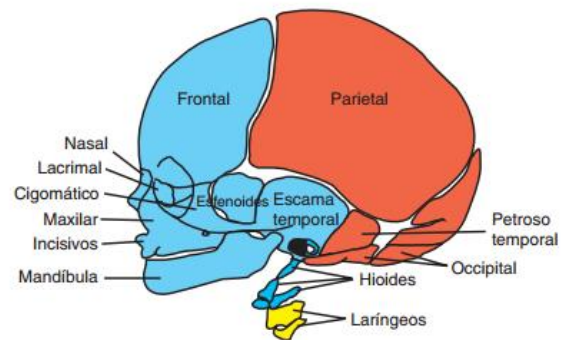
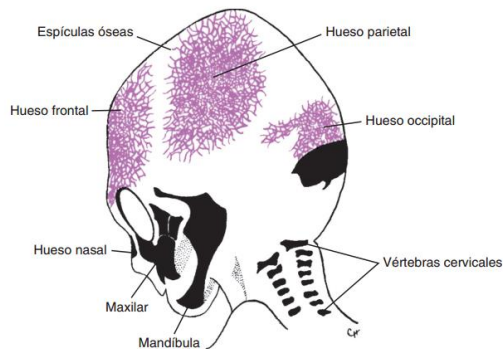
El cráneo se puede dividir en dos partes: el neurocráneo, que forma una caja protectora alrededor del encéfalo, y el viscerocráneo o esplanocráneo, que forma el esqueleto de la cara.

El **neurocráneo**, a su vez, también se divide en dos partes:

- 1) La *parte membranosa*, constituida por huesos planos, que rodea al encéfalo formando una bóveda.
- 2) La *parte cartilaginosa o condrocráneo*, que forma los huesos de la base del cráneo.

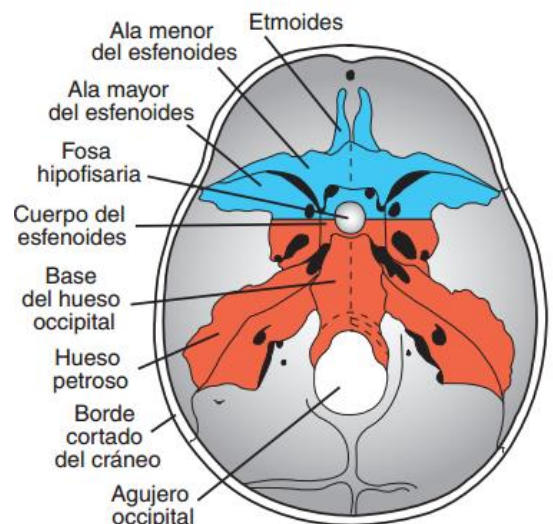
Neurocráneo membranoso

La parte membranosa del cráneo deriva de las células de la cresta neural y del mesodermo paraxial. El mesénquima procedente de ambas fuentes rodea al encéfalo y experimenta osificación intramembranosa. El resultado es la aparición de varios huesos membranosos planos que se caracteriza por la presencia de espículas óseas en forma de aguja. Las espículas irradian poco a poco de los centros de osificación primarios a la periferia. Al proseguir el desarrollo durante la vida fetal y posnatal, los huesos membranosos se agrandan por aposición de nuevas capas en la superficie externa y por la reabsorción osteoclástica simultánea en la parte interna. (2)



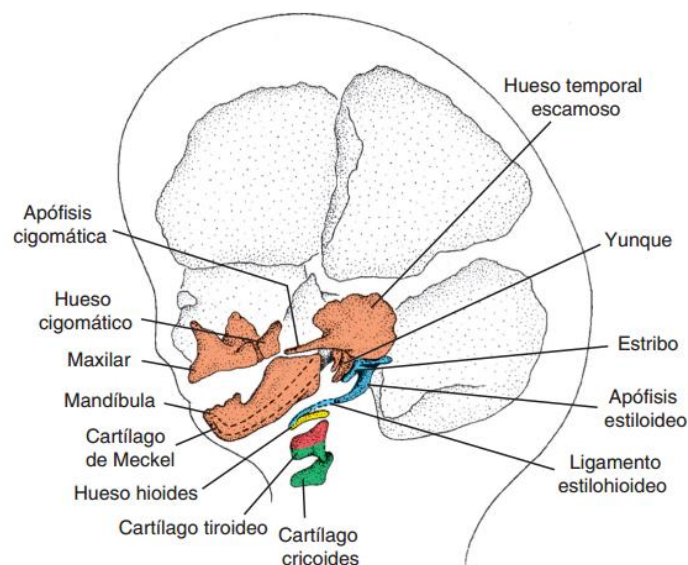
Neurocráneo cartilaginoso

El neurocráneo cartilaginoso o condrocráneo consta inicialmente de varios cartílagos individuales. Derivan de las células de la cresta neural los cartílagos que se hallan delante del límite rostral de la notocorda que termina en el nivel de la hipófisis en el centro de la silla turca: constituyen el **condrocráneo precordial**. Los cartílagos que se hallan detrás de este límite provienen de los escleromas occipitales formados por el mesodermo paraxial y originan el **condrocráneo cordal**. Se forma la base del cráneo cuando estos cartílagos se fusionan y se convierten en huesos por la osificación endocondral. (2)



El **esplacnocráneo o viscerocráneo**, que consta de los huesos de la cara, se forma principalmente a partir de los dos primeros arcos faríngeos. El primer arco origina una parte dorsal, la apófisis maxilar, que se extiende hacia adelante debajo de la región del ojo y produce el maxilar, el hueso cigomático y parte del hueso temporal. La parte ventral, la apófisis mandibular, contiene el cartílago de Meckel. El mesénquima alrededor de éste se condensa y se convierte en hueso mediante la osificación intramembranosa para dar origen a la mandíbula. El cartílago de Meckel desaparece salvo en el ligamento esfenomandibular. El extremo dorsal de la apófisis mandibular, junto con el del segundo arco faríngeo, origina el yunque, el martillo y el estribo. (2)

En un principio la cara es pequeña en comparación con el neurocráneo. Eso se debe a la ausencia de los senos respiratorios paranasales y al tamaño de los huesos, en especial de las mandíbulas. La cara pierde sus rasgos de bebé al brotar los dientes y al aparecer los senos respiratorios. (2)



METODOLOGÍA: MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración de este trabajo hemos partido de una revisión bibliográfica de las publicaciones que han abordado el tema, investigando online en las bases de datos Pubmed, Medscape, Crossref y Google Académico, y consultando principalmente artículos científicos y manuales médicos.

Para la selección de las publicaciones pertinentes, se utilizaron las siguientes palabras clave: “zika virus”, “microcephaly”, “virus microcephaly”, “zika virus microcephaly”. Los filtros aplicados han sido: “publication dates 10 years” y “free full text”. Además, también se han consultado varios manuales médicos: “Embriología médica” de Langman y “Embriología clínica” de Moore KL., así como guías y protocolos de actuación y vigilancia de la Sociedad Española de Pediatría, de Ginecología y Obstetricia y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

RESULTADOS

ANOMALÍAS CONGÉNITAS DEL CEREBRO: MICROCEFALIA

Debido a la complejidad de su evolución embriológica, es frecuente el desarrollo anómalo del encéfalo (alrededor de 3 de cada 1000 nacimientos). La mayoría de anomalías son consecuencia del cierre defectuoso del neuroporo rostral a lo largo de la cuarta semana y afectan a los tejidos suprayacentes (meninges y bóveda craneal). La histogenia anómala de la corteza cerebral puede dar lugar a convulsiones y varios tipos de retraso mental. (3)

Definimos microcefalia como crecimiento anormal del perímetro cefálico, estando éste por debajo de los límites normales para la media de edad, sexo y edad gestacional (4). El primer problema que nos encontramos es una definición muy flexible y poco estandarizada que, en cualquier caso, desafía un diagnóstico preciso de la microcefalia y hace mucho más difícil la interpretación y registro adecuado de los datos (5). Por ello, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) han recomendado que se defina la microcefalia como una circunferencia occipitofrontal por debajo del *tercer percentil* para la edad gestacional y el sexo (1). Por otra parte, hay muchos factores que pueden contribuir a un falso diagnóstico de microcefalia, como por ejemplo la malnutrición, ya que se cree que puede tener un impacto negativo sobre el crecimiento fetal, incluyendo la circunferencia craneal. Por tanto, también es necesario el seguimiento posterior al diagnóstico inicial para realizar un diagnóstico definitivo o completar un diagnóstico correcto, considerando la limitación de la definición operativa del tamaño de la cabeza. (5)

Como hemos comentado anteriormente, el crecimiento craneal está íntimamente ligado al crecimiento cerebral, por lo que un deficiente crecimiento cerebral, bien primario (enfermedades cerebrales primarias) o una detención del crecimiento secundaria a procesos intercurrentes, va a condicionar la presencia de una microcefalia por microencefalia. En el caso de la microcefalia, la bóveda craneal y el encéfalo son pequeños, pero el tamaño de la cara es normal. Estos niños tienen un retraso mental notable debido al infradesarrollo del encéfalo. La microcefalia primaria está presente al nacimiento

constituyendo un trastorno del desarrollo cerebral estático, mientras que la microcefalia secundaria se presenta de forma postnatal y suele implicar un carácter progresivo. En ambos casos la microcefalia puede ser armónica si se asocia a retraso del peso y la talla. (4)

Así, las microcefalias se pueden clasificar según la Tabla III:

Tabla III. Tipos de microcefalia según su etiología y patología
1. Microcefalia por defecto primario desarrollo cerebral.
2. Microcefalias secundarias a detención del crecimiento cerebral por: <ul style="list-style-type: none">• Agentes nocivos fetales.• Infecciones prenatales.• Infecciones posnatales.• Otras agresiones y enfermedades.• Cierre precoz de todas las suturas craneales, presente al nacimiento

1.- Defecto primario en el desarrollo cerebral, con menos número y tamaño de las células nerviosas, de carácter genético. En ellas se encuadran:

- Microcefalia Primitiva Esencial o Vera
- Microcefalia Primaria Autosómica Recesiva
- Malformaciones Cerebrales
- Trastornos Cromosómicos: síndrome de Down, de Edwards, de Patau y otros
- Síndromes Genéticos: síndrome de Seckel, de Cornelia de Lange, de Smith-Lemli-Opitz, de Rett, de Angelman y otros
- Trastornos en la migración neuronal

2.- Microcefalia secundaria a detención del crecimiento cerebral.

2a- Efectos de agentes nocivos fetales. Entre ellos, las radiaciones, la ingesta de tóxicos, determinadas enfermedades maternas, la fenilcetonuria materna y otras

2b- Infecciones prenatales. Debidas a rubeola, varicela, herpes, citomegalovirus, toxoplasmosis, sífilis y otras.

2c- Infecciones postnatales. Subsiguientes a meningoencefalitis víricas, meningitis bacterianas, meningitis tuberculosa, abscesos cerebrales, etc

2d- Otras situaciones. Encefalopatía hipóxico-isquémica, asfixia por inmersión, deshidratación hipo e hipernatrémica, hipoglucemia, acción de tóxicos, malnutrición, aminoacidopatías y acidurias orgánicas, enfermedades peroxisomales, enfermedades mitocondriales, traumatismos craneoencefálicos.

3.- Cierre precoz de todas las suturas craneales y presente al nacimiento. Es la única situación en que el cierre precoz de suturas se manifiesta por una microcefalia.

La microcefalia asociada al virus Zika podría englobarse dentro del apartado de infecciones prenatales (apartado 2b). De hecho, un estudio publicado en *The Lancet Infectious Diseases* en septiembre de 2016 (6) recomienda que la lista de infecciones congénitas denominadas comúnmente TORCH (toxoplasmosis, otros [sífilis, varicela-zoster, parvovirus B1], rubeola, citomegalovirus y herpes) pase a denominarse TORCHZ, añadiendo el virus Zika como causante de microcefalia y otras manifestaciones congénitas.(6)

El síntoma común prácticamente a todas las microcefalias es el retraso mental, salvo en algunos casos de microcefalia familiar. Dependiendo de la etiología del proceso pueden aparecer otros síntomas: convulsiones, trastornos neurosensoriales (ceguera, sordera), trastornos psicológicos, malformaciones viscerales, alteraciones del tono muscular, fenotipo atípico, defectos motores, dificultades en la alimentación y trastornos del movimiento. (4)

El diagnóstico de la microcefalia se hace al comprobar que la medida del PC está por debajo de 3 DS de la normalidad. Es esencial medir el PC a padres y hermanos. El diagnóstico etiológico se hará en función a los datos de la historia clínica, los antecedentes, la sintomatología presente y tras los hallazgos de las exploraciones complementarias. (4)

EVIDENCIA DE LA POSIBLE ASOCIACIÓN CAUSAL ENTRE EL VIRUS ZIKA Y LA MICROCEFALIA

La infección prenatal por el virus Zika se ha relacionado con anomalías cerebrales graves en el feto, sobre todo con la microcefalia. Sin embargo, a pesar de la acumulación de múltiples pruebas que apoyan el vínculo, los expertos han sido muy cautelosos a la hora de atribuir dichas anomalías al virus Zika. Esto puede ser debido, en parte, a que la última vez que un patógeno infeccioso (virus de la rubéola) causó una epidemia de anomalías congénitas fue hace más de 50 años y, en parte, a que nunca ha sido demostrado de forma definitiva que un flavivirus causara anomalías congénitas en humanos. Además, no se han notificado casos de microcefalia durante los brotes anteriores de virus Zika en las islas del Pacífico. (9)

El primer trabajo que estableció una asociación definitiva entre ambos fue el realizado por *Rasmussen et al.* (9). Para ello, evaluaron los datos disponibles utilizando criterios que habían sido propuestos con anterioridad para determinar teratógenos potenciales. Estos criterios son los llamados **criterios de Shepard**, descritos en 1994 por Thomas Shepard, un investigador pionero en el campo de la teratología. Incluyen un total de siete criterios para comprobar la teratogenicidad de ciertos agentes en humanos. Los criterios de Shepard reúnen criterios desarrollados por otros teratólogos y fueron elaborados basándose en métodos utilizados para identificar teratógenos previos. Así, los utilizaremos como un marco para evaluar si la evidencia actualmente disponible apoya la hipótesis de que “la infección prenatal por el virus Zika es una causa de microcefalia y otras anomalías cerebrales”.

A lo largo del tiempo, se han utilizado dos métodos para identificar posibles teratógenos (exposiciones de una madre durante el embarazo que tienen un efecto perjudicial sobre su embrión o feto):

- En primer lugar, la identificación de una combinación entre una exposición rara y un defecto raro; Muchos teratógenos se identificaron por primera vez mediante el enfoque de exposición rara-defecto raro, incluido el virus de la rubéola, que fue identificado después de que un oftalmólogo observara una forma característica de cataratas en bebés cuyas madres tuvieron rubéola durante el embarazo. Otro ejemplo de este enfoque podría ser el reconocimiento de un patrón característico de malformaciones conocido como síndrome alcohólico fetal. (9)
- En segundo lugar, el uso de datos epidemiológicos para confirmar una asociación; Algunos teratógenos han sido identificados a partir de estudios epidemiológicos (por ejemplo, el ácido valproico fue identificado como un teratógeno después de un estudio de casos y controles que mostró un odds ratio de 20 para la asociación entre espina bífida y el uso de este fármaco durante el primer trimestre de embarazo). (9)

Teniendo en cuenta estos dos enfoques, los criterios de Shepard establecen la causalidad cuando se cumplen los criterios 1, 3 y 4 (exposición rara-defecto raro) o los criterios 1, 2 y 3 (enfoque epidemiológico). (9)

Criterio 1: Se ha probado la exposición del agente en uno o más de los periodos críticos del embarazo.

Estudios de casos, series de casos y otros estudios epidemiológicos han demostrado que en los casos con mayor severidad de microcefalia, la exposición al virus Zika (basada en los síntomas de la madre, viaje a una zona endémica o confirmación del laboratorio) ocurrió al final del primer trimestre de embarazo o al inicio del segundo. Aunque es posible que el virus Zika pueda infectar al feto durante cualquier trimestre del embarazo, cada vez más autores creen que el periodo crítico es el primer trimestre. En el estudio realizado por *Cauchemez et al.* (17) se analizaron retrospectivamente los datos de virus Zika y microcefalia en la Polinesia Francesa entre septiembre de 2013 y julio de

2015 para evaluar los períodos de más riesgo, llegando a la conclusión de que la susceptibilidad a la microcefalia está más aumentada en los fetos que fueron infectados durante el primer trimestre.

Se concluye que el primer criterio de Shepard se cumple.

Criterio 2: Al menos dos estudios epidemiológicos de alta calidad que apoyen la asociación (prospectivos si es posible, con número suficiente de casos, con control de factores de confusión y exclusión de sesgos y con riesgo relativo ≥ 6).

Se han publicado dos estudios epidemiológicos:

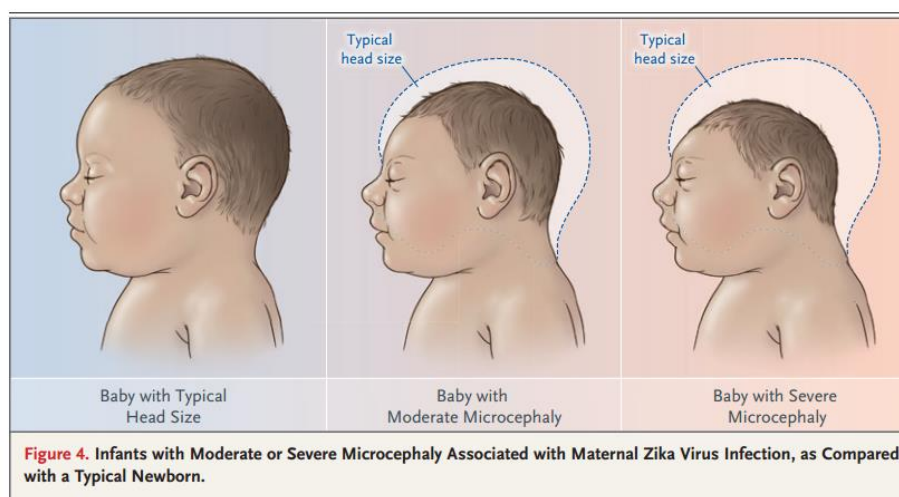
- 1) Un estudio de cohortes prospectivo realizado en Brasil (6), en el que el 29% de las mujeres con infección por el virus Zika en cualquier momento del embarazo tuvieron anomalías en la ecografía prenatal, algunas de las cuales no se confirmaron postnatalmente.
- 3) Un estudio retrospectivo realizado en la Polinesia Francesa (17), donde identificaron ocho casos de microcefalia. Los autores utilizaron datos serológicos y estadísticos para estimar que el 1% de los fetos y neonatos nacidos de madres que habían sido infectadas con el virus Zika en el primer trimestre tuvieron microcefalia - una prevalencia que fue aproximadamente 50 veces mayor a la prevalencia basal estimada.

Ningún otro estudio epidemiológico ha examinado esta asociación hasta la fecha y, aunque estos estudios proporcionan una evidencia importante que apoya la relación causal entre el virus Zika y la microcefalia, ambos tienen limitaciones: un número relativamente pequeño de casos, falta de control de factores de confusión y un solo estudio prospectivo.

Por lo tanto, concluimos que el segundo criterio de Shepard sólo se cumple parcialmente.

Criterio 3: Descripción detallada de casos clínicos con anomalías específicas o síndrome establecido.

El fenotipo de los fetos y neonatos con presunta infección por el virus Zika se ha caracterizado bastante bien, incluyendo microcefalia severa, calcificaciones intracraneales y otras anomalías cerebrales, a veces acompañadas de hallazgos oculares, piel redundante del cuero cabelludo, artrogriposis y pie zambo. Tales hallazgos han llevado a los autores a utilizar el término "**síndrome de Zika congénito**". La excesiva y redundante piel del cuero cabelludo es un hallazgo que no se observa normalmente en otras formas de microcefalia. Sugiere una interrupción del crecimiento cerebral seguida de un colapso parcial del cráneo, pero no de la piel del cuero cabelludo. (9)



Los signos del síndrome de Zika congénito detectables por ultrasonografía incluyen atrofia cerebral, calcificaciones intracraneales, disgenesia del cuerpo calloso, aumento de la cisterna magna y hemisferios cerebrales asimétricos. La tomografía computarizada o la resonancia magnética también se pueden utilizar para identificar alteraciones del síndrome de Zika congénito, incluyendo calcificaciones en la unión entre la sustancia blanca cortical y subcortical, malformaciones del desarrollo cortical, disminución del volumen cerebral y ventriculomegalia.

Concluimos que se cumple el tercer criterio de Shepard.

Criterio 4: Exposición ambiental rara asociada temporalmente con una anomalía rara.

La relación temporal existente entre el brote de Zika ocurrido en Brasil y el posterior incremento de casos de microcefalia aporta una prueba sólida que vincula la microcefalia con la infección materna por el virus Zika.

El concepto de este criterio es que un defecto raro que ocurre después de una exposición rara durante el embarazo implica la causalidad debido a la improbabilidad de dos acontecimientos raros que ocurren juntos. (9)

Criterio 5: Se ha demostrado la teratogenicidad en animales de experimentación.

Aunque se ha demostrado que el virus Zika es neurotrópico en modelos animales, por el momento no se han publicado estudios concluyentes que prueben teratogenicidad en animales, aunque se están realizando. Por tanto, el quinto criterio de Shepard todavía no se cumple.

Criterio 6: La asociación debe tener sentido biológico.

Este criterio se cumple claramente, ya que:

1. Los hallazgos son similares a los observados después de otras infecciones prenatales con algunos teratógenos virales ya conocidos (por ejemplo, citomegalovirus, virus de la rubéola)

2. **Transmisión vertical** del virus Zika.

Adibi et al. (10) propusieron dos hipótesis para explicar el mecanismo por el que un virus puede pasar a través de la placenta y dar lugar a efectos teratogénicos. La primera fue que algunos virus pueden pasar directamente, infectando así al embrión o feto. La segunda es que algunos virus causan una reacción inflamatoria placentaria, causando así el daño. El mecanismo detallado del paso del virus Zika al embrión o feto todavía no está claro, pero *Noronha et al.* (11) encontraron que el virus Zika podría dañar la barrera placentaria humana al inducir una

placentitis crónica, detectando proteínas virales en las células Hofbauer (células ovaladas que se encuentran dentro de la luz de las vellosidades coriónicas de la placenta) y algunos histiocitos en los espacios intervilares. Por otra parte, se ha identificado ARN de virus Zika en el líquido amniótico de madres cuyos fetos tuvieron anomalías cerebrales detectadas por ultrasonografía (1).

3. La **evidencia histopatológica**.

Se ha observado ARN de virus Zika en células mononucleares dañadas (presumiblemente células gliales y neuronas) en los cerebros de recién nacidos con microcefalia. *Driggers et al.* (8) describieron un caso de una mujer embarazada infectada con el virus Zika durante la 11^a semana de gestación. Después de varias ecografías fetales encontraron que la circunferencia de la cabeza fetal había disminuido desde el percentil 47 a las 16 semanas de gestación hasta el percentil 24 a las 20 semanas de gestación, lo que indica que la tasa de crecimiento cerebral disminuyó después de la infección por el virus Zika. Además, aislaron con éxito ARN del virus Zika del tejido cerebral fetal, lo que proporciona una evidencia adicional a esta asociación. Además de la microcefalia, también se encontraron otros defectos congénitos causados por el virus Zika, tales como daño placentario y muerte fetal, lo que sugería que la microcefalia podría ser parte de un síndrome general de crecimiento fetal restringido inducido por la infección materna por el virus Zika.

El cerebro no mostró anomalías macroscópicas aparentes, pero el análisis microscópico reveló abundantes apoptosis que afectaban principalmente a las neuronas postmigratorias diferenciadas de forma intermedia en el neocórtex. Por el contrario, las neuronas bien diferenciadas de los ganglios basales y las regiones límbicas, así como las células primitivas de la matriz germinal parecían no estar afectadas. Además de las anomalías neuronales corticales, la zona subventricular y la sustancia blanca mostraron una pérdida de volumen severa con una extensa rarefacción axonal e infiltrados de macrófagos. Este patrón se correlaciona con la atrofia vista en las imágenes prenatales. (8)

El examen ultraestructural del tejido cortical mostró un agregado de partículas electrondensas intracelulares, similares a virus. La capacidad para localizar específicamente el compartimiento celular que alojaba estas partículas estuvo limitada por la pobre preservación del tejido. La mayor carga viral de virus Zika se encontró en el cerebro fetal, y también en la placenta, las membranas fetales y el cordón umbilical. (8)

En otro estudio realizado por *Jernej Mlakar, et al.* (18), también se observaron hallazgos en microscopía electrónica consistentes con la infección por el virus Zika en el cerebro fetal.

4. Modelos animales han demostrado que el virus Zika tiene un **comportamiento neurotrópico**, ya que infecta las células progenitoras neurales y produce muerte celular y crecimiento anormal, proporcionando así un posible mecanismo para la microcefalia.

Diversos autores han utilizado modelos animales para investigar el mecanismo de daño cerebral mediado por el virus Zika y así, intentar explicar el vínculo con la microcefalia:

Cui et al. (12), utilizaron un modelo de ratón y una cepa contemporánea de virus Zika para investigar la relación entre la infección por el virus y la microcefalia. Encontraron que el virus Zika podía replicarse eficientemente en el cerebro embrionario del ratón y causar la detención del ciclo celular, la apoptosis y la inhibición de la diferenciación neuronal de células precursoras, lo que conducía a un adelgazamiento cortical y microcefalia.

Rossi et al (13). también utilizaron ratones para simular la infección por virus Zika y encontraron que éste podía detectarse en el cerebro tan sólo tres días después de la infección, causando enfermedad neurológica (temblores) seis días después de la infección. Estos resultados demuestran la naturaleza neurotrópica del virus.

Aunque los ratones no son el modelo ideal para describir la patogénesis de la infección por virus Zika en humanos, proporcionan una idea inicial.

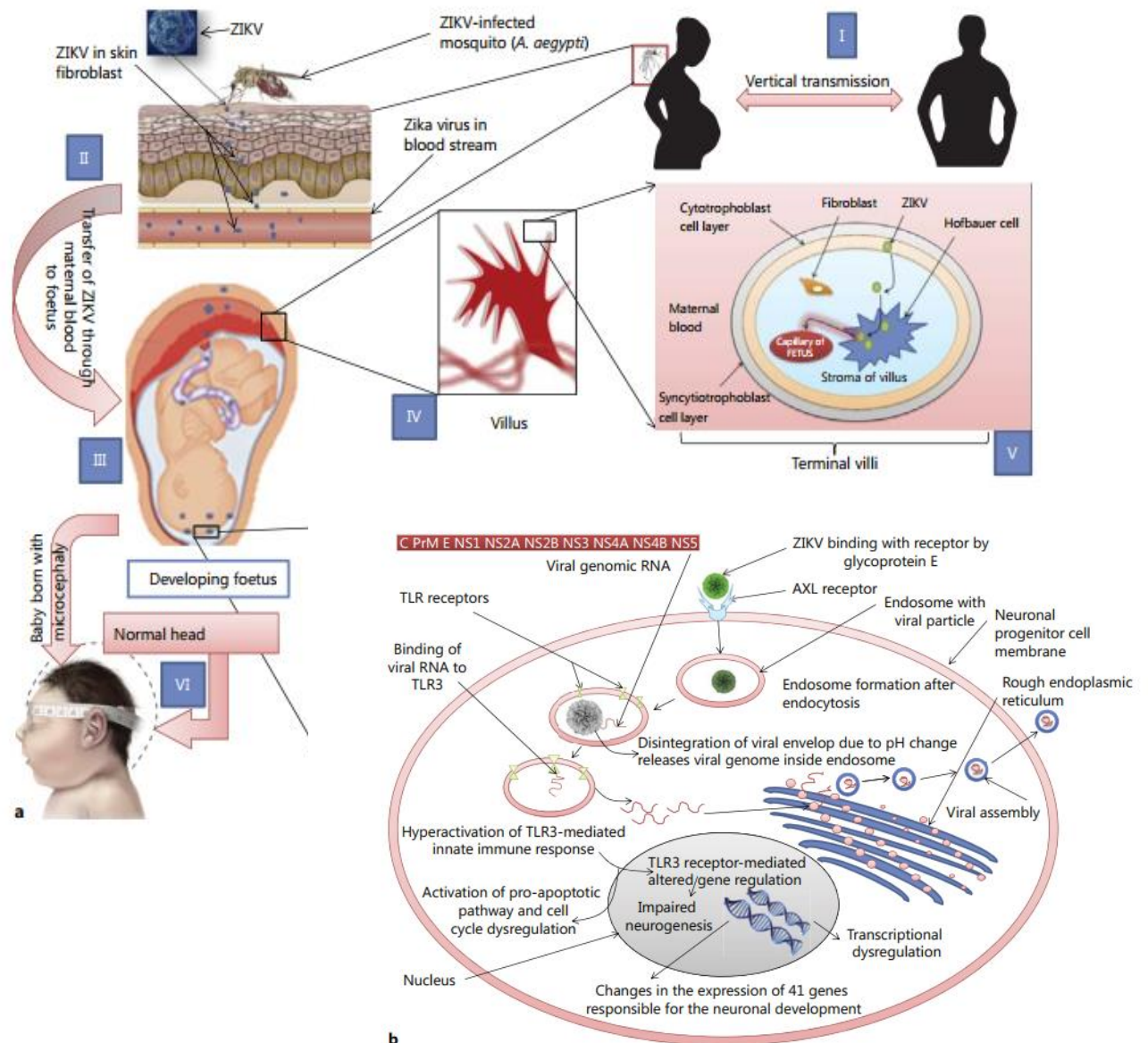
En cuanto al mecanismo del daño cerebral en humanos, algunos autores creen que el virus Zika podría reducir la formación del tejido cerebral afectando al centrosoma, la estabilidad cromosómica y la autofagia. El deterioro de la función propia del aparato mitótico es un posible mecanismo por el cual el virus Zika puede ejercer efectos teratogénicos.

Utilizando células madre pluripotentes humanas, *Garcez et al.* (14) investigaron las consecuencias de la infección por virus Zika en el primer trimestre del desarrollo del cerebro con modelos de cultivo en 3D. Estos modelos demostraron que el virus Zika podría conducir a la muerte celular en células madre neurales humanas y afectar el crecimiento de organoides.

Además de los efectos neurotróficos directos del virus Zika, sus efectos autoinmunes podrían ser otro mecanismo importante de daño cerebral. *Anaya et al.* (15) creían que los gangliósidos podrían desempeñar un papel relevante en las complicaciones neurológicas asociadas con la infección por virus Zika. Los gangliosidos son abundantes en la materia gris del cerebro, y su expresión influye en la neurogénesis, la sinaptogénesis, la transmisión sináptica y la proliferación celular. Es posible que durante la replicación del virus, éste pueda inducir una respuesta autoinmune contra los gangliósidos, dando como resultado una mayor incidencia de complicaciones neurológicas y afectando el desarrollo del cerebro fetal.

El **mecanismo inmunológico** del virus Zika es también muy importante porque podría ser usado para la investigación y el desarrollo de vacunas. Se cree que la entrada del virus Zika está mediada por receptores de superficie celular entre los que destaca una proteína fosfatidilserina, la **AXL**, perteneciente a la familia de receptores TAM. Una investigación reciente (20) ha demostrado que la proteína AXL se sobreexpresa en células cerebrales humanas en desarrollo, incluyendo astrocitos, células endoteliales y microglia. Curiosamente, estas células con alta expresión de proteína AXL son particularmente vulnerables a la infección por el virus Zika. La entrada del virus Zika a través de este receptor estimula las vías de señalización mediadas por AXL y suprime la respuesta inmune innata. Aunque todavía se desconoce el mecanismo molecular preciso de la microcefalia, recientemente un estudio

realizado por *Dang et al.* (16), ha propuesto un modelo para intentar explicar el daño inducido por el virus Zika en el cerebro en desarrollo. Los autores desarrollaron un modelo 3D de un cerebro humano del primer trimestre utilizando células madre embrionarias. En las células normales, el **receptor TLR3** sirve como un “defensor” contra la invasión viral o la respuesta inmune innata. Este estudio sugiere que en las células progenitoras neuronales infectadas con el virus Zika, la red inmune regulada por TLR3 afecta a la expresión de alrededor de 41 genes responsables de la neurogénesis, la diferenciación de células progenitoras y la apoptosis, lo que podría desempeñar un papel clave en causar microcefalia.



Criterio 7: Se ha probado en un estudio experimental la actuación del agente en su estado natural.

Este criterio se aplica en medicamentos o productos químicos, no en agentes infecciosos, por lo tanto, en este caso no tiene validez. (9)

Por lo tanto, teniendo en cuenta los criterios de Shepard, se cumplen los criterios 1, 3 y 4, evidencia que se considera suficiente para identificar un agente como teratógeno.

CONCLUSIONES

La incidencia actual de la infección por el virus Zika es difícil de medir debido a que los síntomas son inespecíficos y generalmente leves, el diagnóstico de laboratorio no está uniformemente disponible ni establecido y tiene claras limitaciones, ya que el test de RT-PCR sólo detecta el ARN viral y, por lo tanto, sólo es efectivo para la detección durante el período de viremia, que suele ser relativamente corto. Además, las pruebas serológicas actuales tienen una reactividad cruzada considerable con otros patógenos como el virus del dengue, que puede ser endémico en las mismas áreas y causar síntomas similares a los del virus Zika.

A pesar de ello, en base a la revisión de las publicaciones actuales y a los criterios de Shepard, podemos concluir que sí existe una relación causal entre la infección prenatal por el virus Zika y la microcefalia y otras anomalías cerebrales graves. La ausencia de una explicación alternativa también apoya esta relación. A pesar de una búsqueda extensa de otras posibles etiologías, los investigadores no han podido identificar hipótesis alternativas que puedan explicar el aumento de los casos de microcefalia que se observaron primero en Brasil, después, retrospectivamente, en la Polinesia Francesa y ahora en informes preliminares que están siendo investigados en Colombia.

Lo que está claro es la necesidad de abordar rápida y sistemáticamente las deficiencias observadas en investigación. Esto incluye una comprensión completa de la frecuencia y todo el espectro clínico de la infección por el virus Zika, de los factores ambientales que influyen y modifican el riesgo de una anomalía congénita (por ejemplo, coinfección con otro virus, respuesta inmunitaria preexistente a otro flavivirus, antecedentes genéticos de la madre o del feto y gravedad de la infección), así como el desarrollo de herramientas diagnósticas discriminantes para los flavivirus, modelos animales que estudien los efectos de una infección por virus Zika en el feto y nuevos productos y estrategias de control de vectores, terapias eficaces y vacunas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lyle R. Petersen, M.D., M.P.H., Denise J. Jamieson, M.D., M.P.H., Ann M. Powers, Ph.D., and Margaret A. Honein, Ph.D., M.P.H. Zika virus. *N Engl J Med* 2016; 374:1552-1563
2. Langman. Embriología médica. 11ª edición. Lippincott Williams Wilkins
3. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Embriología clínica. Octava Edición. Elsevier España. Barcelona; 2008
4. Protocolos de la Asociación Española de Pediatría, 2008. Milagros Martí Herrero y José Carlos Cabrera López. Sección de Neuropediatría. Hospital Universitario Materno-Infantil de Las Palmas. Macro y microcefalia. Trastornos del crecimiento craneal.
5. Wu Jing, Huang Da-Yong, Ma Jun-Tao, Ma Ying-Hua, Hu Yi-Fei. Available Evidence of Association between Zika Virus and Microcephaly. *Chinese Medical Journal*, 2016; 129: 2347-2356.
6. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study de Araújo, Thalia Velho Barreto et al. *The Lancet Infectious Diseases*, Volume 16, Issue 12 , 1356 – 1363.
7. Wang J-N, Ling F. Zika Virus Infection and Microcephaly: Evidence for a Causal Link. Tchounwou PB, ed. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016;13(10):1031.
8. Driggers, R.W.; Ho, C.Y.; Korhonen, E.M.; Kuivanen, S.; Jääskeläinen, A.J.; Smura, T.; Rosenberg, A.; Hill, D.A.; DeBiasi, R.L.; Vezina, G.; et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374: 2142–2151. [CrossRef] [PubMed]

9. Rasmussen, S.A.; Jamieson, D.J.; Honein, M.A.; Petersen, L.R. Zika virus and birth defects—Reviewing the evidence for causality. *N. Engl. J. Med.* 2016, 374, 1981–1987. [CrossRef] [PubMed]
10. Adibi, J.J.; Marques, E.T., Jr.; Cartus, A.; Beigi, R.H. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *Lancet* 2016, 387, 1587–1590. [CrossRef]
11. Noronha, L.D.; Zanluca, C.; Azevedo, M.L.; Luz, K.G.; Santos, C.N. Zika virus damages the human placental barrier and presents marked fetal neurotropism. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2016, 111, 287–293. [CrossRef] [PubMed]
12. Li, C.; Xu, D.; Ye, Q.; Hong, S.; Jiang, Y.; Liu, X.; Zhang, N.; Shi, L.; Qin, C.F.; Xu, Z. Zika virus disrupts neural progenitor development and leads to microcephaly in mice. *Cell Stem Cell* 2016, 19, 120–126. [CrossRef] [PubMed]
13. Rossi, S.L.; Tesh, R.B.; Azar, S.R.; Muruato, A.E.; Hanley, K.A.; Auguste, A.J.; Langsjoen, R.M.; Paessler, S.; Vasilakis, N.; Weaver, S.C. Characterization of a novel murine model to study Zika virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016, 94, 1362–1369. [CrossRef] [PubMed]
14. Garcez, P.P.; Loiola, E.C.; Madeiro da Costa, R.; Higa, L.M.; Trindade, P.; Delvecchio, R.; Nascimento, J.M.; Brinderiro, R.; Tanuri, A.; Rehen, S.K. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science* 2016, 352, 816–818. [CrossRef] [PubMed]
15. Anaya, J.M.; Ramirez-Santana, C.; Salgado-Castaneda, I.; Chang, C.; Ansari, A.; Gershwin, M.E. Zika virus and neurologic autoimmunity: The putative role of gangliosides. *BMC Med.* 2016, 14. [CrossRef] [PubMed]

16. Dang, J.; Tiwari, S.K.; Lichinchi, G.; Qin, Y.; Patil, V.S.; Eroshkin, A.M.; Rana, T.M. Zika virus depletes neural progenitors in human cerebral organoids through activation of the innate immune receptor TLR3. *Cell Stem Cell* 2016. [CrossRef] [PubMed]
17. Cauchemez, S.; Besnard, M.; Bompard, P.; Dub, T.; Guillemette-Artur, P.; Eyrolle-Guignot, D.; Salje, H.; Van Kerkhove, M.D.; Abadie, V.; Garel, C.; et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–2015: A retrospective study. *Lancet* 2016, 387, 2125–2132. [CrossRef]
18. Jernej Mlakar, M.D., Misa Korva, Ph.D., Nataša Tul, M.D., Ph.D., Mara Popović, M.D., Ph.D., Mateja Poljšak-Prijatelj, Ph.D., Jerica Mraz, M.Sc., Marko Kolenc, M.Sc., Katarina Resman Rus, M.Sc., et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 374:951-958
19. Faizan M, I, Abdullah M, Ali S, Naqvi I, H, Ahmed A, Parveen S, Zika Virus-Induced Microcephaly and Its Possible Molecular Mechanism. *Intervirology* 2016;59:152-158
20. Nowakowski TJ, Pollen AA, Di Lullo E, Sandoval-Espinosa C, Bershteyn M, Kriegstein AR: Expression analysis highlights AXL as a candidate Zika virus entry receptor in neural stem cells. *Cell Stem Cell* 2016;18:591–596
21. Merfeld, E., Ben-Avi, L., Kennon, M. and Cerveny, K. L. (2017), Potential mechanisms of Zika-linked microcephaly. *WIREs Dev Biol*, e273. doi:10.1002/wdev.273