



UPPSALA
UNIVERSITET

Sambandet mellan zikaviruset och mikrocefali

- Samt en inblick i Guillain-Barre syndromet

Heba Albatrok

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sambandet mellan Zikaviruset och Mikrocefali - Samt en inblick i Guillain-barré syndromet

Heba Albatrok

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Zikaviruset upptäcktes år 1947 i Uganda men uppmärksammades inte fram till 2007, efter ett första utbrott på Yapöarna, därefter på Franska Polynesien och en tredje gång i Brasilien. Viruset tillhör familjen flavivirus och sprids främst med myggor utav *Aedes* släktet. Ett starkt samband mellan zikaviruset och mikrocefali har påvisats, som innebär en förminskad hjärna. Det har även påvisats ett samband mellan viruset och Guillain-barré syndromet som är en autoimmun sjukdom som i senare skede kan leda till förlamning. Symptom som uppkommer vid en zikainfektion är bland annat ledstelhet, huvudvärk, och utslag över bröst och armar. Mekanismen bakom hur mikrocefali utvecklas hos foster är ännu inte fullt förstådd. En stor kunskapslucka är bland annat hur viruset överförs från moder till foster. Studier har dock visat målceller för zikaviruset vilket är neutrala progenitorceller som utvecklar centrala nervsystemet hos foster. Studier har även visat att pluripotenta stamceller och humana embryonala stamceller även kan angripas utav zikaviruset. Detta innebär att angripande utav zikaviruset på denna typ av celler kan orsaka celldöd. Detta innebär att detta kan orsaka att hjärnan inte utvecklas som den ska. För Guillain-Barré syndromet så tror man att zikaviruset angriper nervceller och orsakar en demyelinisering av cellerna.

Inledning

På senare år har antalet fall av mikrocefali ökat dramatiskt bland nyfödda, vilket innebär en förminskad hjärnvoly. Ökningen har främst skett i Brasilien och i andra länder där det samtidigt pågått ett utbrott av Zikaviruset (ZIKV). Ett annat syndrom som också ökat i takt med spridningen av ZIKV är Guillain-barré syndromet (GBS), vilket är en autoimmun sjukdom som i senare skede kan leda till förlamning (Blum *et al.* 2015). Detta har lett till misstankar att det skulle kunna finnas en koppling mellan mikrocefali och ZIKV men även mellan GBS och ZIKV, vilket senare bekräftats med hjälp av studier.

Mikrocefali är ett medfött syndrom då det är en missbildning av hjärnan som innebär att hjärnan inte växer normalt under utvecklingen i moderns mage (Cauchemez *et al.* 2016). Mikrocefali innebär en förminskad omkrets på fostrets huvud då hjärnan är underutvecklad, vilket i sin tur medför andra funktionshinder för barnet, som svårigheter i motoriska funktioner och svårigheter med balans eller koordination. Det finns olika orsaker till mikrocefali, bland annat genetiska faktorer där det ibland kan bero på ett recessivt anlag som framkallar syndromet men det kan även orsakas av virus (Cauchemez *et al.* 2016).

ZIKV tillhör familjen Flavivirus och upptäcktes år 1947 när det isolerades från en rhesusapa som man hade tänkt använda för experiment (Cao-Lormeau *et al.* 2016).

Det första utbrottet av ZIKV skedde 2007 på Yapöarna. Detta bidrog till en ökad forskning och förståelse för ZIKV. Eftersom studier inte gjorts på ZIKV innan utbrottet på Yapöarna då det inte sågs som nödvändigt eftersom endast 14 fall av zika-infekterade människor rapporterats (Calvet *et al.* 2016). Därefter uppmärksammades viruset en andra gång år 2013 på Franska Polynesien och en tredje gång i Brasilien 2015 där man beräknade att mellan 440,000 till 1.3 miljoner personer hade blivit smittade med ZIKV (Mlakar *et al.* 2016).

Symptom

Symptomen vid en ZIKV-infektion kan variera. Vissa människor upplever att de inte känner av några symptom alls, medan andra människor kan uppleva huvudvärk, ledstelhet, illamående, och även utslag på armar och mage som kliar (Mlakar *et al.* 2016).

Studier som gjorts visar att den största riskgruppen för viruset är gravida kvinnor i första trimestern. Detta då ZIKV kan orsaka skador på barnet samt öka riskerna för mikrocefali (Calvet *et al.* 2016, Cauchemez *et al.* 2016). ZIKV tros öka risken för GBS hos vuxna då antalet patienter behandlade för GBS ökat från tre patienter år 2012 till 42 patienter under åren 2013-2014 i Franska Polynesien (Cao-Lormeau *et al.* 2016).

För trodde man att viruset endast spreds med hjälp av myggor som tillhör *Aedes* släktet, men studier som gjorts det senaste året har även visat att det finns en risk för att viruset kan överföras via sexuell kontakt, sperma och bröstmjölk,. Studier föreslår även att ZIKV kan överföras via saliv då det fann ZIKV-RNA i saliv hos patienter (Barthel *et al.* 2013, Calvet *et al.* 2016).

Huvudsyftet med detta arbete är att kartlägga sambandet mellan mikrocefali och ZIKV, samt hur ZIKV kan orsaka missbildningar hos foster. Syftet med arbetet är att även ta upp vilka syndrom man kan få efter en ZIKV-infektion så som GBS, men det kommer även att ta upp likheter med andra myggburna virus som orsakar mikrocefali. Detta är ett viktigt virus som man bör lyfta fram då ZIKV idag blivit ett stort problem i många delar av världen på så vis att det orsakat många skador på foster och i värsta fall även lett till dödsfall hos foster. Förutom detta har viruset även orsakat skador på vuxna, då det ökat riskerna för GBS vilket lett till att många blivit paralyserade (Hekmat *et al.* 2016).

Epidemiologi

ZIKV som orsakat många epidemier över åren upptäcktes i Uganda 1947 och isolerades första gången från en rhesusapa i zika skogen, i Uganda. Det första fallet av en smittad människa upptäcktes 1954 (Cao-Lormeau *et al.* 2016). Därefter rapporterades det 14 fall av zikasmittade människor i Afrika samt sydöstra Asien mellan år 1954 och år 2007, bland annat i Uganda, Tanzania, Egypten, Sierra Leone, Gabon, Nigeria, Elfenbenskusten, Kamerun, Senegal och Centrala Afrikanska Republiken. Asiatiska länder har man rapporterat att man funnit viruset i Indien, Pakistan, Malaysia, Philippines, Thailand, Kambodja, Vietnam och Indonesien (Calvet *et al.* 2016).

Det första utbrottet av ZIKV

År 2007 lyckades man sedan isolera ZIKV på Yapöarna i stilla havet, då man identifierade det första utbrottet. Områden som viruset spred sig till då var Yapöarna, Mikronesien, Cooköarna, Påskön, Franska Polynesien, Nya Kaledonien, Guam, Salomonöarna, Samoa och även Vanuatu (Calvet *et al.* 2016) där över 49 bekräftade personer smittades av ZIKV. Redan där kunde man se en ökad rapportering av mikrocefali bland nyfödda. På Yapöarna så beskrevs symptombilden som utslag, huvudvärk, smärta i lederna, och bindhinnekatarr (Duffy *et al.* 2009). Under 2013 till 2014 skedde ännu ett utbrott på Franska Polynesien, då antalet insjuknade ökade från 3 patienter år 2012 till 42 patienter år 2014 (Cao-Lormeau *et al.* 2016). Ett par år senare, år 2015 dök ännu ett nytt utbrott ut men denna gång i Brasilien. Det beräknade antalet barn som föddes med mikrocefali i Brasilien under 2015 fram till mars 2016 nådde över 4783 bland dessa 76 foster som dött (Calvet *et al.* 2016). WHO har beräknat att från 2015 fram till 2016 har mellan 440,000-1.3 miljoner personer blivit smittade av ZIKV (Mlakar *et al.* 2016).

Flavivirus

Flavivirus är en stor familj som gjort sig känd genom att orsaka sjukdomar hos människor och däggdjur. Det är den största virusfamiljen och innehåller de mest kända virusen (Miorin *et al.* 2016) bland annat gula febern-virus, dengueviruset, japansk encefalit virus, west nile virus, men även fästingburen encefalit virus. Viruserna som ingår i denna familj överförs främst via myggor men även via fästingar (Vancini *et al.* 2013).

Spridningen av flavivirus ses som ett hot mot den globala hälsan då utvecklandet och muterandet hos virus sker relativt snabbt i samband med den globala uppvärmningen. Vektorn för dessa flavivirus är ofta av släktet *Aedes Aegypti*. Flavivirus finns naturligt i naturen och går i cykler där insekter, myggor/vektorer och vertebrater fungerar som värd (främst förekommer det mellan myggor och fåglar) och där människan fungerar som en död ände värd, som inte kan sprida viruset. Vid cykeln av Denguevirus kan ibland människan fungera som värd, vilket innebär att myggor kan smittas av människan för att i sin tur smitta andra personer via myggbett. Detta är dock ganska ovanligt men möjligt (Vancini *et al.* 2013).

Flavivirus är virus med ett RNA-genom packat i viral capsid protein C. Flavivirusets genom är en 11 kilobaspar enkelsträngat RNA (Miorin *et al.* 2016). Dessa virus har även visat sig kunna smitta mellan moder och barn via bröstmjölk, vilket man bekräftat genom en studie (Besnard *et al.* 2014). Viruset har en enkel struktur och innehåller flera kopior av 3 strukturella proteiner capsid (C), envelope (E), och membran (M) protein. Där E- proteinet tros vara de som uttrycks på ytan av viruset och det är där som bindningen till celler kommer ske (Vancini *et al.* 2013).

ZIKV struktur

ZIKV är enkelsträngat men positivt laddat, med en storlek på 10.7 kilo baspar genom. Det kodar till ett polyprotein som klyvs i 3 strukturella proteiner och 7 ostrukturella proteiner som är C (protein som reglerar blodkoagulation), prM/M (membranprotein) och E (kinesin liknande motorprotein), och de ostrukturella är NS1 (nonstructural protein 1), NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B och NS5. De strukturella proteinerna kodar för olika protein medans de ostrukturella proteinerna är de som formar viruset (Giovanetti *et al.* 2016). Det är okänt vilken målreceptor på cellen ZIKV angriper (Hamel *et al.* 2015). Detta gör att det ännu idag finns väldigt få vacciner mot Flavivirus trots att dessa virus idag är globalt utspridda och orsakar sjukdomar och i värsta fall dödsfall (Vancini *et al.* 2013).

Smittvägar

ZIKV är ett virus som främst smittar genom myggbett, detta har man lyckats fastställa via studier. ZIKV är ett artropod-buret virus vilket innebär att viruset bärs och sprids med hjälp av artropoder (leddjur) (arbovirus) i familjen flavivirus. Man har hittat många myggarter som är infekterade med ZIKV, dessa arter är *Aedes africanus*, *Aedes av luteocephalus*, *Aedes hensilli*, *Aedes polynesiensis*, *Aedes dalzielii*, *Aedes albopictus*, *Aedes apicoargenteus*, men även *Aedes aegypti*. *A.aegypti* släktet är den dominerande myggarten i Brasilien och har även gjort sig känd för att sprida andra arbovirus så som dengue och chikungunyavirus (Calvet *et al.* 2016).

Misstankar om att ZIKV överförs via bröstmjölks finns, samt att viruset passerar placenta (moderkakan) har länge funnits, detta på grund av att det tidigare gjorts studier på liknande arbovirus, som visat en överföring via bröstmjölks, och en passage genom placenta (Barthel *et al.* 2013, Musso *et al.* 2015). En studie gjord av Besnard *et al.* (2014) visade att två kvinnor som ammar och som smittats av ZIKV att ZIKV RNA detekterats i bröstmjölks. Dock kunde inga replikat av ZIKV hittas. Studien förstärkte misstanken att en överföring av ZIKV mellan moder och barn via bröstmjölks är mycket möjlig (Besnard *et al.* 2014).

ZIKV har även visat sig vara synligt i saliv, vilket skulle kunna vara en smittväg, Detta lyckades en studie som utförd av Musso *et al.* (2015) visa. Där ett antal prover saliv undersöktes för att säkerställa om det skulle vara en möjlig smittningsväg. 1 067 salivprover samlades in från 885 patienter som smittats med ZIKV. Där samlades även 748 blodprover in, och 319 salivprover som togs vid samma tillfälle. I studien användes polymerase chain reaction (PCR) metoden för blodproverna men även saliv proverna. Resultatet visade att av de 748 blodprov så var 210 Zika positiva, det vill säga 28,1 %. Bland de salivprover man tagit fann man att av 319 prover var 182 prover positiva för ZIKV, vilket är 57,1 %. Resultatet visade alltså att Zika RNA i många fall kan ses i saliv och skulle kunna vara en möjlig smittväg (Musso *et al.* 2015).

Orsakar Zikaviruset Mikrocefali?

ZIKV injiceras i samband med att en blodsugande hona av *Aedes* släktet injicerar sitt virus i dess värd. Detta orsakar givetvis en infektion hos individen (Hamel *et al.* 2015). Infektioner som orsakas av ZIKV påverkar inte den individ som smittas så mycket på kort sikt och ibland kan den smittade inte märka av dess infektion då ZIKV ofta leder till milda symptom, dock kan individer som infekterats kan få symptom som utslag, feber, huvudvärk och ledstelhet (Cauchemez *et al.* 2016). För vuxna människor innebär en Zika infektion en ökad risk för GBS och för gravida även en fara för fostret. Det på grund av att ZIKV tros vara associerat med Mikrocefali som är ett syndrom som på senare tid har ökat dramatiskt i de drabbade länderna samt även öka risken för GBS (Cao-Lormeau *et al.* 2016).

I ett experiment som utfördes av Hamel *et al.* (2015) tittade man på mänskliga hudceller samt på hur cellerna reagerade på en injicering av ZIKV. Studien gjordes i syfte av att försöka detektera och förstå vilken receptor ZIKV binder till samt på hur immunförsvaret reagerar utav det. Vid injicering av ZIKV i huden så uppkom infektionssymptom. Studien visade även en viss tolerans hos hudcellerna för Zika infektioner och replikation (Hamel *et al.* 2015). Immunförsvaret angriper dessa celler så fort det känt av något främmande. Studien visade även att Fibroblaster och epidermala kreatinocyter är mindre skyddade mot ZIKV infektioner, samt att en infektion i någon av dessa celler skulle tillåta viruset replikera och på så vis sprida sig i hög takt. I samma studie lyckades man även se att de celler som infekterats av ZIKV ofta kan utföra en apoptos vilket ZIKV reglerar, viruset kan på så vis avleda immunförsvaret så att det blir svårare att bli upptäckt (Hamel *et al.* 2015).

Ett virus som är väldigt likt ZIKV med dess symptombild är Dengueviruset och är som tidigare nämnt även ett arbovirus och tillhör familjen flavivirus. Dengueviruset är väldigt lik ZIKV i dess symptombild och man misstänkte därför dengueviruset många gånger innan man lyckades detektera ZIKV. För dengueviruset fungerar även människan som värd. Symptom som kan uppkomma vid en infektion är svåra förkylningssymptom som liknar infektionen av ZIKV. Där bland annat feber uppkommer, men även ledsmärter, stark huvudvärk, och hudutslag (Mirza *et al.* 2016).

En studie som gjordes på Yapöarna av Duffy *et al.* (2009) visade att hos vissa zika smittade patienter kunde man hitta antikroppar mot dengueviruset. Dock var man inte övertygad att alla dessa patienter smittats av dengueviruset, då symptombilden av dengue-infektioner inte precis stämde överens med de symptom som patienterna uppvisade, dock väldigt lik. Ytterligare serum prover togs hos dessa patienter där man sedan kunde detektera ZIKV. Där man undersökte totalt 71 prover och i 10 utav dem prover lyckades man hitta ZIKV RNA. Vid den tiden hade man inte något känt utbrott av ZIKV och man kände endast till 14 tidigare fall av smittade patienter (Duffy *et al.* 2009). Viruset är globalt utspritt, där över 100 länder har smittats. Sedan man upptäckte viruset år 1950 har WHO (World Health Organisation) beräknat att över 2.5 billioner människor riskerar infektionen, som sedan 2010 orsakat 1076 dödsfall (Sinha *et al.* 2016). Anledningen till varför dengueviruset misstänktes många gånger är på grund av att det i de flesta länder där ZIKV brutit ut är känt där sedan tidigare. En annan anledning är på grund av att en akut ZIKV infektion triggade igång produktionen av anti-denguevirus, IgG som då kan relateras till tidigare dengue sjukdomar (Cao-Lormeau *et al.* 2016).

Vid upptaget av ZIKV från värdceller via endocytos kommer den sura miljön i endoplasmatiska retiklet (ER) att bidra till en konformationsändring hos viruset från en dimer till en trimer. Detta bidrar till en fusering med cellmembranet. Under mognaden av viruset som sker i trans-golgi apparaten utsätts viruset för ett ännu lägre pH värde vilket orsakar en konformationsändring av viruset som då är en E-prM heterodimer till en E homodimer. (Dai *et al.* 2016). Där konformationsändringen möjliggör en klyvning sedan av prM från E-prM heterodimeren. E-homodimeren kan därefter släppas ut i det extracellulära mellanrummet. E-proteinet är viktigt för att viruset ska kunna inträda celler men är även ett mål för neutraliserande antikroppar, som är en del av immunförsvaret och som kan hämma/neutralisera viruset, då neutraliserande antikroppar har en hög affinitet till E-proteinet som uttrycks på utsidan av ZIKV (Dai *et al.* 2016). Samt att den neutraliserande effekten är upp till 50% på viruset. Detta innebär att inte allt virus kommer att angripas av neutraliserande antikroppar utan endast 50% av viruset (Dai *et al.* 2016).

Rubellaviruset en annan orsak till mikrocefali

För att försöka förstå mekanismen bakom mikrocefali efter en ZIKV-infektion kan man titta på rubellaviruset. Det är ett annat virus som tidigare fruktats av gravida och är även känt som röda hund. Det är ett virus som möjligen även skulle kunna orsaka mikrocefali om det skulle vara så att en gravid kvinna smittats av det (Nguyen *et al.* 2015). Rubellaviruset tillhör ett helt annat släkte än ZIKV men är dock även väldigt patogen mot människan. Rubellaviruset tillhör *rubivuris*, familjen *Togaviridae* (Nguyen *et al.* 2015).

Viruset (RV) kan infektera placent/moderkakan men även passera moderkakans barriär, och ingå i fostrets blodflöde, möjligtvis genom nekrotiska endotel celler som härstammar från en infekterad fosterhinna och på så vis orsaka mikrocefali (Nguyen *et al.* 2015). Studien som utfördes av Nguyen *et al.* (2015) där utfördes en biopsi (vävnadsprov) på 3 foster som bekräftat rubella infektioner och fann i ett av tre fall att det skett en förkalkning på vissa områden i hjärnan. Det som kunde observeras var en fokal färgning av progentitorceller i cerebellum (lillhjärnan). I livmoderslemhinnan hittades fokala områden av nekros, dock ingen inflammation. Det detekterades även virala antigener i endotelceller och även i basal plattan av placentan. Rubellavirusets antigen lyckades man fastställa i 2 av 3 fall då man fann de i hjärt fibroblaser i hjärtmuskeln. En annan värdefull identifiering som gjordes var RV antigener i hNPCs av det yttre lagret av hjärnan, vilket inte lyckats detekteras tidigare. Misstankar kring den mest mottagliga cellen för rubellaviruset är astrocyter (Nguyen *et al.* 2015). Dessa är saker som man tror ingår i mekanismen bakom mikrocefali när det gäller just rubellaviruset. En underutvecklad hjärna bidrar givetvis till svårigheter med förståndet, men vid en skada på epitelceller kan detta leda till större skador på organ som ska utvecklas hos fostret. Dock krävs fler studier inom detta område för att kunna fastställa den fulla mekanismen. En fördel med detta virus är att det finns idag ett vaccin i de flesta länder som kan förebygga detta på global nivå.

För att diagnostisera ett barn med mikrocefali krävs det att fostret skallstorlek är två storlekar mindre än normalt, för dess kön, ålder men även etnicitet. Mikrocefali även kan orsakas av genetiska faktorer så som via recessivt anlag, men även via andra inflammationer så som rubellaviruset, Aicardi-Guthus syndrom, rett syndrom och X-kromosomal mikrocefali. Faktorer som tros öka risken av mikrocefali är droger, alkohol, och andra neurotoxiska substanser (Calvet *et al.* 2016).

I en studie som gjordes av cauchemez *et al.* (2016) tittade man på andelen gravida kvinnor som smittats av ZIKV under utbrottet i Franska Polynesien som är en ö i stilla havet och hur långt in i graviditeten dessa kvinnor var. Syftet med studien var att se under vilken trimester som riskerna för att fostret ska smittas med ZIKV var högst. Resultatet visade att sju av åtta fall av mikrocefali uppkom under en 4 månaders period då ZIKV-utbrottet var aktuellt. Studien lyckades även fastställa att vid smittning under de tre första månaderna av graviditeten var det 1% risk för mikrocefali (Cauchemez *et al.* 2016).

I en annan studie gjord av Calvet *et al.* (2016) så undersöktes fostervattnet hos två gravida kvinnor och testades för denguevirus, Chikungunyavirus, Toxoplasma Gondii, rubellavirus cytomegalovirus, herpes simplex virus, HIV, Treponema pallidum och parvovirus B19 där alla dessa visade negativt. Dock lyckades ZIKV sekvenseras hos båda de kvinnliga patienterna, som därefter jämfördes med genomet för ZIKV som tidigare orsakat en epidemi i Franska Polynesien vilket visade en matchning från 97% till 100% (Calvet *et al.* 2016).

Måceller för ZIKV

Som tidigare nämnt är den fulla mekanismen bakom mikrocefali ännu inte fullt förstådd, där det saknas kunskap om hur viruset överförs från moder till foster. Det man känner till är att

ZIKV infekterar hNPCs som vanligtvis fungerar som stamceller, men mer specificerade (Tang *et al.* 2016). Hos människor så kan en infektion av ZIKV öka risken för celldöd, men även en oregelbunden cellcykel. Då man lyckats fastställa att hNPCs är direkta mål för ZIKV där viruset sprider sig till 65-90 % av närliggande celler inom 3 dagar, vilket en studie utförd av Tang *et al.* (2016) visade. Pluripotenta stamceller (hiPSC) och humana embryonala stamceller (hESCs) kunde även angripas av ZIKV dock sprider sig inte infektionen så som vid en infektion i hNPCs som istället är direkta mål (Tang *et al.* 2016).

Med tanke på vilken roll hNPCs celler har i människokroppen så kan detta ha dåliga konsekvenser vid angripandet av dessa celler. hNPCs är en form av celler som spelar en viktig roll i utvecklandet av det centrala nervsystemet. Då dessa fungerar som stamceller och kan formas till neuronala eller gliaceller som bygger upp det centrala nervsystemet. Med tanke på deras funktion så har även hNPCs celler även använts flitigt vid behandlingar där man behövt använda stamceller, så som i parkinson har hNPCs visats öka motorfunktionen hos försöksdjur (Liu *et al.* 2013). hNPCs är celler som kan härstamma från hESCs, iPSCs eller från fostrets centrala nervsystem (Liu *et al.* 2013). Ett angripande av ZIKV på dessa celler kan alltså innebära en hel del skador på det centrala nervsystemet.

Med tanke på att det inte finns tillräckligt med studier gjorda i området, så finns även inte så många hypoteser. Två hypoteser presenterade av Adibi *et al.* (2016) beskriver två möjliga mekanismer bakom hur ZIKV kan nå barnet från modern. Den första hypotesen säger att det kan vara så att vid smittning av mamman så når ZIKV fostrets hjärna direkt via moderkakan. För att viruset ska orsaka en effekt måste viruset vara neurotoriskt, och måste nå fostret i det tidigaste stadiet av utvecklingen av cerebrala cortex. Dock är fostret i detta stadie väl skyddat från moderns cirkulationssystem. En möjlig väg för viruset att nå fostret tros vara via läckage via tropoblasten där viruset bärs runt med Fc gamma receptorer. Tropoblasten som då omger barnet gör det möjligt för viruset att transporteras som små exosomer som kan målsätta embryonisk, eller foster neuro epitelium, på detta sätt orsakar dengueviruset fosterskador (Adibi *et al.* 2016).

Alternativ hypotes är att moderkakan reagerar som en respons på ZIKV, som orsakar effekter som i sin tur kan orsaka mikrocefali eller andra syndrom. Modern kan sluta signalera via placentan till fostrets utvecklande hjärna, detta kan orsaka eller leda till högre risker att barnet sedan utvecklar en mikrocefali, vilket är fallet för murine herpesvirus (Adibi *et al.* 2016). En anledning till varför det skett en ökning av vektorburna virus är på grund av den globala uppvärmningen som på senare tid orsakat en ökning av temperaturen på olika platser i världen. Detta då en ökning av temperaturen bidrar till en ökad population av myggor som därmed bidrar till fler myggbett som spelar en viktig roll i spridningen av viruset (Liu-Helmersson *et al.* 2016).

Guillain-barré syndrom (GBS)

ZIKV tros även orsaka en ökad risk för GBS som tidigare nämnt.

Det är en autoimmun sjukdom som orsakar en demyelinisering av de myeliniserade nervcellerna i det perifera nervsystemet, detta påverkar rörelseförmågan hos den drabbade, och orsakar svårigheter att röra på sig (Hekmat *et al.* 2016). GBS är även en sjukdom som tros vara relaterad till ZIKV, där ett insjuknande ökar risken för GBS. Man gjorde en studie (Cao-Lormeau *et al.* 2016) där man i Franska Polynesien år 2014 behandlade 42 patienter för GBS. Anledningen till varför man misstänkte en koppling mellan ZIKV och GBS var på grund av att antalet insjuknande av GBS ökade dramatiskt då man 2012 behandlade 3 patienter på franska Polynesien, medan man 2013-2014 behandlade 42 patienter för GBS. Då undersöktes och gjordes en studie där man upptäckte att 98% det vill säga 41 patienter av 42

med syndromet hade anti-zika immunoglobulin M (IgM) eller immunoglobulin G (IgG), medan alla 42 patienter hade antikroppar mot ZIKV. Bland dessa patienter fann man även att 74% av patienterna ej hade antikroppar mot dengueviruset och resten hade det, vilket även tros ha en koppling till GBS (Cao-Lormeau *et al.* 2016).

Då detta är en autoimmun sjukdom som inte studerats tillräckligt så är den fulla mekanismen som kan orsaka GBS inte fullt känd. Man har funnit anti-glykolipid IgG-antikroppar riktade mot gangliosider, som är en grupp lipider som kan hittas i nervceller (Cao-Lormeau *et al.* 2016). GBS är en neuropatisk sjukdom, vilket innebär att den påverkar nerverna. Det som hittills är känt om GBS är att syndromet i senare skede kan orsaka en demyelinisering av nervcellerna (Blum *et al.* 2015) och kommer därför att påverka överföringar av elektriska impulser över nerver och på så vis påverka organ och vävnad i och med att dessa ofta är kopplade.

GBS kan även orsakas av andra anledningar, som graviditet, operationer eller vaccinationer. Man har lyckats fastställa att 5 % av GBS orsakas av operationer som därefter har triggat igång syndromet. Detta på grund av att de flesta operationer triggar igång en immunologisk reaktion till perifera nerver som en respons av kirurgiskt ingrepp (Hekmat *et al.* 2016). Alternativa behandlingar som finns idag för GBS som kan uppkomma hos en del vuxna efter att de blivit smittade av ZIKV är behandlingar som används vid autoimmunitet på grund av att man tror att GBS är en autoimmun sjukdom (Blum *et al.* 2015).

Diskussion

ZIKV har varit känt ett flertal år, men har dock inte studerats i den utsträckning som det borde. Detta beror på att man tidigare innan epidemin i Franska Polynesien inte upplevt ZIKV som ett stort problem. Detta har orsakat att man inte forskat tillräckligt mycket om ZIKV och därför så vet man tyvärr inte mekanismerna bakom hur det kan orsaka mikrocefali eller hur det kan öka riskerna av GBS.

Symptomen på ZIKV skiljer sig även inte så mycket från andra symptom som orsakas av flavivirus. Detta gör det svårare att diagnostisera patienter med ZIKV för att undvika smitta. Som tidigare nämnt kan vissa patienter ibland uppleva milda symptom, så som huvudvärk, illamående men även ledstelhet. Sedan finns det andra patienter som inte upplever något alls, trots att dessa är smittade med ZIKV. Detta gör det svårare att inte sprida viruset via sexuell kontakt eller via andra vägar så som genom bröstmjölk men även möjligtvis via saliv (Barthel *et al.* 2013, Musso *et al.* 2015).

Det som man gjort studier på och vet hittills är att som tidigare nämnt vid ZIKV infektion så är målcellerna för viruset hNPCs. Vid en infektion av en cell så kommer 65-90% av de celler som ligger runt omkring att dö då viruset sprids väldigt lätt i kroppen. Detta kommer så i sin tur att orsaka celldöd (Tang *et al.* 2016). Man har även lyckats se att även dendritiska celler är väldigt känsliga mot ZIKV (Hamel *et al.* 2015). Man vet dock inte på vilket sett denna celldöd kommer att påverka fostret. Vid en studie utförd av Mlakar *et al.* (2016) som gjordes i Natal, huvudstaden av Rio Grande, undersökte man en gravid kvinna som upplevt att hon under vecka 13 i sin graviditet blivit sjuk, där hon upplevt hög feber, utslag på kroppen och ledstelhet. I vecka 14 och 20 i kvinnans graviditet gjordes ett ultraljud då man misstänkte ZIKV. Detta visade normal tillväxt av barnet och en normal anatomi. När ultraljudet upprepades vecka 29 kunde man se att barnet inte växte som det ska då man misstänkte bland annat mikrocefali. Detta gjorde att kvinnan valde bort barnet och när en autopsi på hjärnan

utfördes visades mikrocefali, där man kunde konstatera olika storlekar än normalt på cortex och på den vita massan. Med hjälp av PCR metoder lyckade man även finna ZIKV. Detta visar att det finns ett tydligt samband mellan zika och mikrocefali. Det som är känt är att zikaviruset angriper främst hNPCs (Tang *et al.* 2016) som har en liknande funktion och som bygger upp det centrala nervsystemet vid ett angripande av dessa celler kan man förstå de negativa konsekvenserna. Ett likande virus är rubellaviruset, som tillhör en helt annan familj av virus men som också kan orsaka mikrocefali. I studier som utförts för rubellaviruset har man kunnat se hos foster att det skett förkalkningar samt nekros i områden i cerebellum, vilket man även sett hos vissa patienter som smittats med ZIKV och fått barn med mikrocefali. Dock kan man inte dra slutsatsen att nekros och förkalkningar i cerebellum orsakats av rubella eller ZIKV. Detta då man inte har tillräckligt med studier, samt att ett fåtal fall inte kan dra den slutsatsen, men det kan vara möjligt.

Hur når zikaviruset fostret?

Med tanke på att det inte finns så många studier gjorda i området, så finns även inte så många hypoteser. Det finns dock två hypoteser presenterade utav Adibi *et al.* (2016) om hur viruset förs över från moder till foster, där man presenterar en första hypotes som säger att ZIKV kan nå fostrets hjärna direkt via placenta i ett tidigt stadie i graviditeten, vilket är lite problematiskt då fostret i detta fall är väl skyddat via placenta. Dock finns en möjlig väg för viruset att nå fostret. Detta kan ske med hjälp av läckage via tropoblasten och via Tropoblasten som omger fostret. Viruset transporteras som små exosomer som kan målsätta embryonisk, eller foster neuro epitelium. Detta kan vara en möjlig hypotes då dengueviruset betar sig på det vis när det orsakar fosterskador (Adibi *et al.* 2016). Då båda dessa virus även tillhör familjen flavivirus och har en liknande struktur är detta möjligt.

En annan hypotes som nämns i samma artikel är mikrocefali orsakas av placentas respons på viruset. Detta då en respons från placenta vid ett virusangrepp innebär att modern kan sluta signalera via placentan till fostrets utvecklande hjärna, vilket i sin tur kan leda till högre risker att barnet sedan utvecklar en mikrocefali. Denna hypotes skulle även kunna vara möjlig då responsen av placenta för murine herpesvirus går till på det viset (Adibi *et al.* 2016).

Dock skulle den första hypotesen kunna vara mer trovärdig då båda virus tillhör samma familj och har liknande struktur, samt samma protein som uttrycks på ytan. Ett annat argument för detta är även att man i många fall även lyckats detektera antikroppar mot dengueviruset hos Zika smittade personer. Detta kan bero på en tidigare infektion som orsakats av dengueviruset men detta kan även bero på att en akut zika infektion triggar igång produktionen av anti-denguevirus, immunoglobulin G (IgG) som då relateras till tidigare dengue sjukdomar (Cao-Lormeau *et al.* 2016), vilket möjligtvis skulle kunna orsaka samma respons.

Slutsats

Slutligen så kan man dra en slutsats att det finns ett samband mellan ZIKV och mikrocefali och även ett samband mellan ZIKV och GBS, då man sett ett samband mellan dessa syndrom och viruset. Dessa syndrom ofta väldigt svåra att behandla detta på grund av att mekanismerna som orsakar detta är okända. Framtida studier som kan göras är att försöka undersöka vilken receptor ZIKV binder till. Detta innebär att man tyvärr måste utföra fler biopsier, men fördelen är att detta kan underlätta forskningen, och vägleda forskningen i rätt riktning. Detta är viktigt för att eventuellt kunna förstå och förhindra mekanismerna som orsakar till exempel mikrocefali eller GBS. Den typen av forskning bör göras på de flesta flavivirus, då dessa sprids väldigt snabbt med hjälp av myggor.

Tack

Jag vill främst tacka Elena Jazin och Cecilia Berg för handledningen samt för deras värdefulla kommentarer under skrivprocessen. Jag vill även tacka mina medstudenter och återkopplare Alexander Kensert, Linda Kjernsmo, och Simon Johansson. Jag vill även tacka min syster Jasmina Albatrok för tips och hjälp. Slutligen vill jag tacka mina föräldrar Hazem Albatrok och Firyal Albatrok för motiveringen jag fått under skrivprocessen.

Referenser

- Adibi JJ, Marques ETA, Cartus A, Beigi RH. 2016. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *The Lancet* **387**: 1587–1590.
- Barthel A, Gourinat A-C, Cazorla C, Joubert C, Dupont-Rouzeyrol M, Descloux E. 2013. Breast Milk as a Possible Route of Vertical Transmission of Dengue Virus? *Clin Infect Dis* **57**: 415–417.
- Besnard M, Lastere S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. 2014. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull* **19**: 1.
- Blum S, Csurhes P, McCombe P. 2015. The frequencies of Killer immunoglobulin-like receptors and their HLA ligands in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy are similar to those in Guillian Barre syndrome but differ from those of controls, suggesting a role for NK cells in pathogenesis. *J Neuroimmunol* **285**: 53–56.
- Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Araujo ESM, de Sequeira PC, de Mendonça MCL, de Oliveira L, Tschoeke DA, Schrago CG, Thompson FL, Brasil P, dos Santos FB, Nogueira RMR, Tanuri A, de Filippis AMB. 2016. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*, doi 10.1016/S1473-3099(16)00095-5.
- Cao-Lormeau V-M, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, Dub T, Baudouin L, Teissier A, Larre P, Vial A-L, Decam C, Choumet V, Halstead SK, Willison HJ, Musset L, Manuguerra J-C, Despres P, Fournier E, Mallet H-P, Musso D, Fontanet A, Neil J, Ghawché F. 2016. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *The Lancet* **387**: 1531–1539.
- Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Eyrolle-Guignot D, Salje H, Van Kerkhove MD, Abadie V, Garel C, Fontanet A, Mallet H-P. 2016. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–15: a retrospective study. *The Lancet*, doi 10.1016/S0140-6736(16)00651-6.
- Dai L, Song J, Lu X, Deng Y-Q, Musyoki AM, Cheng H, Zhang Y, Yuan Y, Song H, Haywood J, Xiao H, Yan J, Shi Y, Qin C-F, Qi J, Gao GF. 2016. Structures of the Zika Virus Envelope Protein and Its Complex with a Flavivirus Broadly Protective Antibody. *Cell Host Microbe* **19**: 696–704.
- Duffy MR, Chen T-H, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB. 2009. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* **360**: 2536–2543.
- Giovanetti M, Milano T, Alcantara LC, Carcangiu L, Cella E, Lai A, Lo Presti A, Pascarella S, Zehender G, Angeletti S, Ciccozzi M. Zika Virus spreading in South America: Evolutionary analysis of emerging neutralizing resistant Phe279Ser strains. *Asian Pac J Trop Med*, doi 10.1016/j.apjtm.2016.03.028.

- Hamel R, Dejarnac O, Wichit S, Ekchariyawat P, Neyret A, Luplertlop N, Perera-Lecoin M, Surasombattana P, Talignani L, Thomas F, Cao-Lormeau V-M, Choumet V, Briant L, Desprès P, Amara A, Yssel H, Missé D. 2015. Biology of Zika Virus Infection in Human Skin Cells. *J Virol* **89**: 8880–8896.
- Hekmat M, Ghaderi H, Foroughi M, Mirjafari SA. 2016. Guillain-Barré Syndrome after Coronary Artery Bypass Graft Surgery: a Case Report. *Acta Med Iran* **54**: 76.
- Lazear HM, Govero J, Smith AM, Platt DJ, Fernandez E, Miner JJ, Diamond MS. A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. *Cell Host Microbe*, doi 10.1016/j.chom.2016.03.010.
- Liu J, Götherström C, Forsberg M, Samuelsson E-B, Wu J, Calzarossa C, Hovatta O, Sundström E, Åkesson E. 2013. Human neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells and fetal nervous system present differences in immunogenicity and immunomodulatory potentials in vitro. *Stem Cell Res* **10**: 325–337.
- Liu-Helmerson J, Quam M, Wilder-Smith A, Stenlund H, Ebi K, Massad E, Rocklöv J. Climate Change and Aedes Vectors: 21st Century Projections for Dengue Transmission in Europe. *EBioMedicine*, doi 10.1016/j.ebiom.2016.03.046.
- Miorin L, Maiuri P, Marcello A. 2016. Visual detection of Flavivirus RNA in living cells. *Methods* **98**: 82–90.
- Mirza SB, Salmas RE, Fatmi MQ, Durdagi S. 2016. Virtual screening of eighteen million compounds against dengue virus: Combined molecular docking and molecular dynamics simulations study. *J Mol Graph Model* **66**: 99–107.
- Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Resman Rus K, Vesnaver Vipotnik T, Fabjan Vodusek V, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Avšič Županc T. 2016. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* **374**: 951.
- Musso D, Roche C, Nhan T-X, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau V-M. 2015. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol* **68**: 53–55.
- Nguyen TV, Pham VH, Abe K. 2015. Pathogenesis of Congenital Rubella Virus Infection in Human Fetuses: Viral Infection in the Ciliary Body Could Play an Important Role in Cataractogenesis. *EBioMedicine* **2**: 59–63.
- Sinha SN, Kar PK, Perugu S, RamaKrishna UV, Thakur CP. 2016. Adefovir dipivoxil — A possible regimen for the treatment of dengue virus (DENV) infection. *Chemom Intell Lab Syst* **155**: 120–127.
- Vancini R, Kramer LD, Ribeiro M, Hernandez R, Brown D. 2013. Flavivirus infection from mosquitoes in vitro reveals cell entry at the plasma membrane. *Virology* **435**: 406–414.

Sambandet mellan zikaviruset och mikrocefali: etikbilaga

Etiska frågeställningar

Zika viruset är idag ett stort samhällsproblem ur globalt perspektiv. Där det bärs av en hel del dominerande myggarter och sprids snabbare än vad vi kan hantera.

Därför är det viktigt att man tar till den forskning som gjorts och bygger på den för att föröka framställa ett vaccin eller något som förhindrar dessa syndrom som viruset orsakar.

Ur etiska perspektiv, så är detta en svår frågeställning detta på grund av att man i de flesta studier är tvungen att studera på foster eller djur. Detta på grund av att man inte riktigt förstår mekanismen för hur Zika smittar foster via moder, och orsakar mikrocefali. I de flesta studier jag tittat på har man använt sig utav foster hjärnor där fostren i de flesta fall dött redan i magen på moder. För att undersöka hur mikrocefali uppkommer och mekanismen som orsakar mikrocefali. Detta är ur ett etiskt perspektiv svårt att avgöra vad som är rätt eller fel i denna frågeställning om man ska använda sig utav foster hjärnor som dött innan födsel. Men i ett desperat försöker att minska antalet som föds med mikrocefali på grund utav zika viruset. Är man tvungen att använda sig utav både friska foster hjärnor men även utav smittade foster. För att kunna kontrollera och se eventuella skillnader. Man skulle även kunna använda sig av celler och utföra studier in vitro, men då man behöver se de fysiologiska processerna i kroppen så är det bästa alternativet foster hjärnor. Den fördel man kan se vid sådana studier är att de ofta får en ökad förståelse för hur viruset spridit sig och nått fostret eller hur zika viruset orsakar mikrocefali. Då man vid en ökad förståelse kan man minska de riskerna som finns för att barn ska födas med mikrocefali men även hur man kan förebygga detta på en global nivå, i både I-länder och U-länder.

Forskningsetik

Jag har använt mig utav varierande tillförlitliga källor, då de mesta funnits på tillförlitliga databaser som web of science eller genomgått en peer-review. De flesta artiklarna jag använt mig utav är modern forskning, gjorda senast i år (2016) men jag har även använt mig utav en del äldre källor som stäcker sig två till tre år tillbaka. Jag har även varit noga med att hänvisa till de källor jag använt och varit tydlig med att skilja mina egna slutsatser från andra slutsatser som dragits utav forskargrupper.