

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE "VICTOR BABEȘ" TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul de Științe Funcționale**

LUNGU ANCA-MIHAELA



TEZĂ DE DOCTORAT

**CONTRIBUȚII PRIVIND ELUCIDAREA ROLULUI
DISFUNȚIEI MITOCONDRIALE ÎN PATOLOGIA
OBSTETRICALĂ**

Coordonator științific:
PROF. MUNTEAN MIRELA-DANINA, MD, PhD

**Timișoara
2022**

CUPRINS

Lista publicațiilor.....	VI
Listă abrevierilor.....	VII
Indexul figurilor	X
Indexul tabelelor	XIV
Mulțumiri.....	XVI
INTRODUCERE	XVII

PARTEA GENERALĂ – REVIEW AL LITERATURII

1. FUNCȚIA ȘI DISFUNCȚIA MITOCONDRIALĂ ÎN SARCINĂ.....	1
1.1. Funcțiile generale mitocondriale și adaptarea acestora în sarcină.....	1
1.2. Disfuncția mitocondrială în sarcină.....	7
2. STRESUL OXIDATIV ÎN SARCINĂ.....	9
2.1. Sursele speciilor reactive ale oxigenului în sarcină.....	9
2.2. Rolul stresului oxidativ în sarcină.....	10
3. PREECLAMPSIA - PREZENTARE GENERALĂ ȘI PATOGENEZĂ.....	12
3.1. Patogenia generală a PE.....	13
3.2. Disfuncția mitocondrială în preeclampsie.....	16
3.2.1. Disfuncția placentară în PE	16
3.2.2. Disfuncția plachetară în PE.....	21
3.3. Stresul oxidativ în patogeneza preeclampsiei.....	23
3.3.1. Placenta ca sursă de SRO în PE	23
3.3.2. Statusul antioxidant în PE	26

PARTEA SPECIALĂ - CONTRIBUȚII PERSONALE

1. MOTIVAȚIE ȘI OBIECTIVE	28
1.1. Obiectivele cercetării.....	29
2. STUDIUL I - EVALUAREA RESPIRAȚIEI MITOCONDRIALE PLACHETARE ÎN PREECLAMPSIE	30
2.1. Scopul studiului	30
2.2. Material și metode	30

2.2.1. Populația studiată	30
2.2.2. Izolarea trombocitelor	31
2.2.3. Respirometria de înaltă rezoluție a trombocitelor izolate	33
2.2.4. Analiza datelor.....	34
2.2.5. Reactivi	34
2.3. Rezultate: Contribuții privind disfuncția mitocondrială plachetară în sarcinile preeclampsice	35
2.4. Discuții privind disfuncția mitocondrială plachetară în cadrul preeclampsiei	47
3. STUDIUL II - EVALUAREA RESPIRAȚIEI MITOCONDRIALE PLACENTARE ÎN PREECLAMPSIE	51
3.1. Scopul studiului	51
3.2. Material și metode	51
3.2.1. Populația studiată	51
3.2.2. Izolarea mitocondriilor placentare	52
3.2.3. Evaluarea respirației mitocondriilor placentare	53
3.3. Rezultate: Contribuții privind disfuncția mitocondrială placentară dependentă de complexul II în preeclampsie	55
3.4. Rezultate: Contribuții privind disfuncția mitocondrială placentară dependentă de complexul II în preeclampsie	61
3.5. Discuții privind disfuncția mitocondrială placentară în contextul preeclampsiei	68
4. STUDIUL III: EVALUAREA STRESULUI OXIDATIV LOCAL ÎN PREECLAMPSIE	72
4.1. Scopul studiului	72
4.2. Material și metode	72
4.2.1. Populația studiată	72
4.2.2. Evaluarea stresului oxidativ placentar	73
4.2.3. Evaluarea transcripției genei MAO prin RT-PCR	74
4.2.4. Evaluarea expresiei proteice MAO prin imunohistochimie	74
4.3. Rezultate: Caracterizarea stresului oxidativ local în preeclampsie	74
4.3.1. Contribuții privind speciile reactive ale oxigenului placentare în preeclampsie	74
4.3.2. Contribuții privind monoaminoxidazele placentare în preeclampsie	77

4.4. Discuții privind stresul oxidativ placentar și rolul MAO în preeclampsie.....	80
5. STUDIUL IV- EVALUAREA STRESULUI OXIDATIV SISTEMIC ÎN PREECLAMPSIE.....	84
5.1. Scopul studiului	84
5.2. Material și metode	84
5.2.1. Populația studiată	84
5.2.2. Evaluarea stresului oxidativ sistemic în preeclampsie: metaboliții reactivi ai oxigenului și capacitatea antioxidantă a plasmei	85
5.3. Rezultate: Contribuții privind evaluarea stresului oxidativ sistemic în preeclampsie.....	86
5.4. Discuții privind stresul oxidativ sistemic în patomecanismul preeclampsiei	88
DISCUȚII GENERALE	91
CONCLUZII	93
REFERINȚE	96

Cuvinte cheie: *preeclampsie, restricție de creștere fetală, disfuncție mitocondrială, placentă, trombocite, respirometrie de înaltă rezoluție, monoaminoxidază, stres oxidativ local și sistemic.*

I. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Preeclampsia (PE), cea mai frecventă complicație a sarcinii, este definită de un sindrom clinic și paraclinic care apare după 20 de săptămâni gestaționale: creșterea valorilor tensiunii arteriale sistolice (≥ 140 mm Hg) și/sau diastolice (≥ 90 mm Hg) la o pacientă anterior normotensivă este asociată cu cel puțin una dintre următoarele disfuncții nou apărute: proteinurie (>300 mg/24h) sau creșterea raportului proteine/creatinină (≥ 30 mg/mmol), leziune renală acută, trombocitopenie, coagulare intravasculară diseminată, hemoliză, insuficiență hepatică, complicații neurologice și disfuncție utero-placentară.

În funcție de momentul debutului, PE cuprinde două fenotipuri cu mecanisme fiziopatologice, caracteristici clinice, markeri biochimici și prognostic diferite: *PE cu debut precoce* (cu simptome și nașterea la <34 săptămâni gestaționale, fiind legată de o placentatie anormală) și *PE cu debut tardiv* (cu simptome și nașterea la >34 săptămâni gestaționale, fiind legată de sindromul inflamator cronic matern).

PE are o fiziopatologie complexă, parțial elucidată, susceptibilitatea genetică, disfuncția endotelială, disfuncția placentară, disfuncția mitocondrială și stresul oxidativ, fiind principalii factori incriminați. În ceea ce privește stresul oxidativ exacerbat, este unanim acceptat că acesta contribuie la fiziopatologia bolii pe tot parcursul acesteia, sursele de specii reactive ale oxigenului (SRO) sunt parțial elucidate.

Disfuncția mitocondrială placentară a fost descrisă mai ales de numeroase studii animale și, mai recent, la om, ca fiind mecanismul fiziopatologic central al PE, fără a ști dacă joacă un rol cauzal sau apare odată cu progresiunea bolii. În PE, alterarea populației mitocondriale placentare este responsabilă reducerea producției de energie (ATP) și de creșterea stresului oxidativ cu depășirea capacității de apărare antioxidantă, sursele de SRO de la nivel placentar sunt departe de a fi pe deplin caracterizate.

În ultimele decenii s-a înregistrat un interes crescut pentru evaluarea funcției mitocondriale la nivelul elementelor figurate sanguine; în principal, trombocitele au fost investigate ca potențiali biomarkeri periferici ai disfuncției mitocondriale de organ în mai multe patologii. *Nu există date în literatura de specialitate cu privire la funcția respiratorie plachetară la pacientele cu preeclampsie.*

Cercetările doctorale au avut drept scop **caracterizarea funcției respiratorii mitocondriale atât la nivelul trombocitelor periferice, cât și la nivel placentar**, precum și a **stresului oxidativ local și sistemic în cadrul PE**. Mai mult, **prezența și contribuția monoaminooxidazei (MAO), o enzimă mitocondrială cu 2 izoforme MAO-A și MAO-B, la stresul oxidativ placentar** a fost evaluată în *premieră* națională.

Obiectivele cercetării au fost următoarele:

1. **Evaluarea respirației mitocondriale în trombocitele periferice** izolate de la gravidele preeclaptice în comparație cu gravidele sănătoase și cu femeile non-gravide de aceeași vârstă.
2. **Evaluarea respirației mitocondriale în mitocondriile placentare** izolate din sarcini preeclaptice cu sau fără restricție de creștere fetală, comparativ cu sarcinile sănătoase.
3. **Caracterizarea stresului oxidativ local în preeclampsie** prin evaluarea: i) **expresiei MAO** și ii) **producției de ROS**, în țesutul placentar central vs. periferic.

4. **Caracterizarea stresului oxidativ sistemic în preeclampsie** prin măsurarea nivelului plasmatic al metaboliților reactivi ai oxigenului și, respectiv, a capacității antioxidante.

Aceste obiective sunt în concordanță cu direcțiile de cercetare ale Centrului de Cercetare Translațională și Medicina Sistemelor din cadrul Disciplinei de Fiziopatologie din cadrul Departamentului de Științe Funcționale, Facultatea de Medicină, "Victor Babeș". Universitatea de Medicină și Farmacie din Timișoara și, de asemenea, cu strategia de cercetare a universității noastre.

Studiile cuprinse în partea specială a tezei sunt prezentate în continuare:

II. Contribuții privind disfuncția mitocondrială plachetară la sarcinile preeclamptice

În ultimele decenii, afectarea respirației mitocondriale în diferite țesuturi și organe solide a apărut ca biomarker al bolii și/sau ca potențial instrument de prognostic, însă biopsia tisulară este mai greu acceptată de pacienți.

Celulele sanguine circulante, în special trombocitele, au fost utilizate din ce în ce mai mult în cercetarea translațională ca un indicator fiabil pentru defectele tisulare în respirația celulară, cu șanse mai mari de aplicabilitate clinică.

În consecință, în primul studiu, respirația mitocondrială plachetară a fost evaluată prin intermediul respirometriei de înaltă rezoluție la nivelul trombocitelor izolate din sângele periferic la pacientele cu fără preeclampsie (PE), comparativ cu un lot de femei voluntare de aceeași vârstă. Participantele ($n=33$) au fost randomizate în 3 loturi: sarcini cu PE ($n=14$, vârsta gestațională - VG $35,31 \pm 0,84$ săptămâni), sarcini fără PE ($n=10$, VG - $33,71 \pm 0,92$ săptămâni) și lotul martor (control, $n=9$).

Rezultatele noastre au arătat că respirația bazală (Fig. 1A) a fost semnificativ crescută la gravidele sănătoase în comparație cu femeile sănătoase în absența sarcinii, iar această creștere a dispărut în prezența preeclampsiei. Mai mult, respirația maximă activă plachetară prezintă o scădere semnificativă (în principal pentru FOS-OX susținută de CI (Fig. 1B), dar și pentru FOS-OX susținută de CI și CII, Fig. 1C) în cazul sarcinilor sănătoase, iar această scădere a fost cuantificată și mai mult în prezența PE, în special pentru respirația susținută de complexul I, sugerând o afectare precoce a CI în cadrul PE. Același comportament a fost observat și pentru respirația non-fosforilantă (LEAK) (Fig. 1D) și în respirația maximă decuplată (capacitatea ET, Fig. 1E), pentru aceasta din urmă, în principal, pentru complexul II (Fig. 1F), în cazul sarcinilor complicate de preeclampsie.

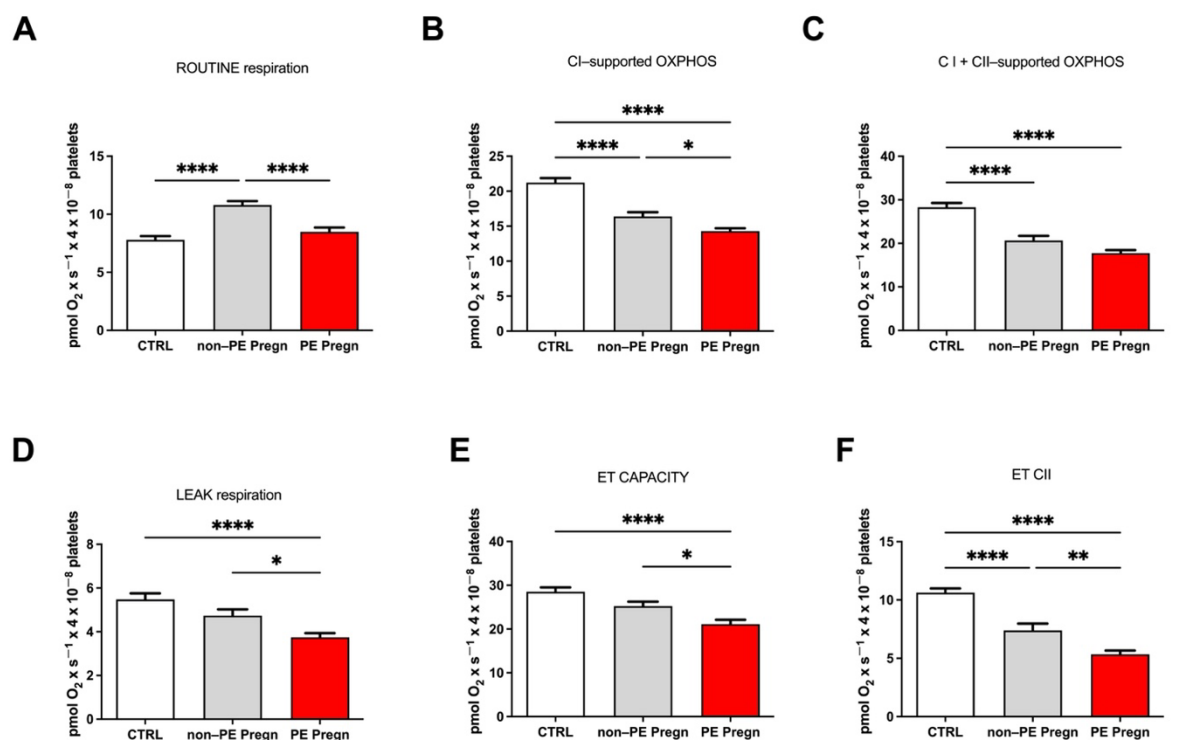


Figura 1 . Parametrii respirației mitocondriale în trombocitele permeabilizate. A: Respirația de bază B: FOS-OX dependent de CI, C: FOS-OX dependent de CI+CII, D: Respirația non-fosforilantă, E: Respirația maximă decuplată dependentă de CI + CII, F: Respirația maximă decuplată dependentă de CII. Datele sunt exprimate ca medie±ESM.

III. Contribuții privind disfuncția mitocondrială placentară legată de complexul I în sarcinile preeclamptice

În cel de-al doilea studiu, disfuncția mitocondrială placentară a fost evaluată în preeclampsie prin respirometrie de înaltă rezoluție, în relație cu prezența sau absența restricției de creștere fetală (RCF). Respirația dependentă de complexul I și II a fost analizată separat în cuvele A și B ale oxigrafului 2k.

Participantele (n=24) au fost randomizate în 3 loturi: sarcini fără PE (n=14, VG=38 ± 0,31) și sarcini cu PE (n=10, VG=35 ± 1,2, p<0,05), cu (n=4) sau fără (n=6) restricție de creștere fetală.

Rezultatele au arătat că, în cazul mitocondriilor placentare izolate de la sarcinile cu PE și feți cu greutate normală, a existat o creștere semnificativă a respirației maxime active și celei maxime decuplate pentru ambelor complexe mitocondriale comparativ cu PE cu RCF sau cu sarcinile sănătoase. În special pentru respirația susținută de complexul I, parametrii au fost mai mult decât dubli la lotul cu PE fără RCF comparativ cu cel cu PE și RCF.

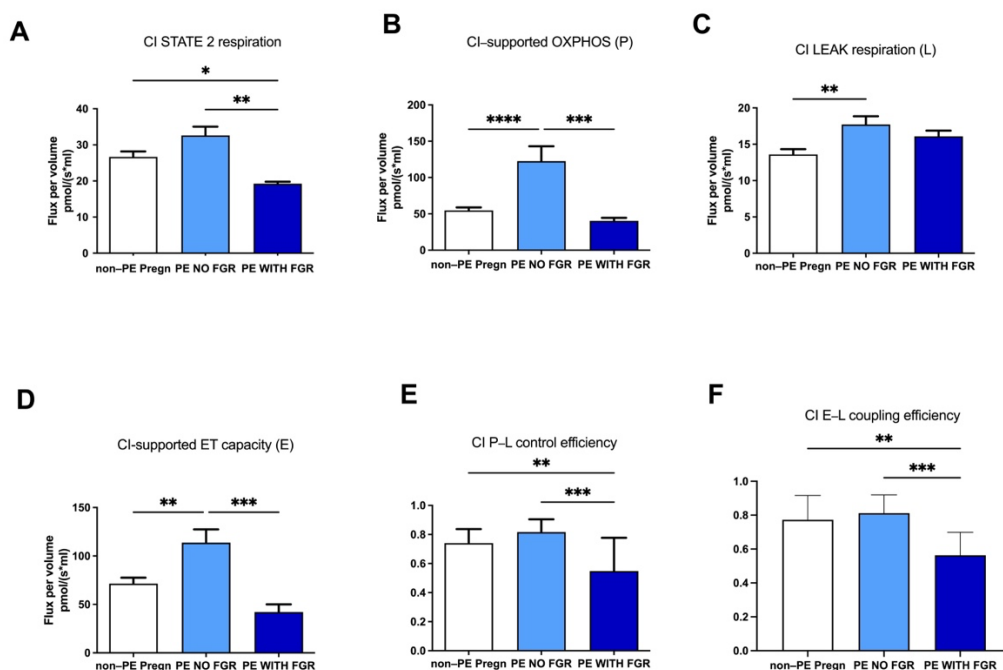


Figura 2. Parametrii respirației mitocondriale placentare dependentă de complexul I (CI). A: Respirația bazală 2, B: Respirația maximă activă C: Respirația non-fosforilantă (LEAK), D: Respirația maximă decuplată (ET), E:Eficiența de control a FOS-OX; F: Eficiența de cuplare a respirației maxime. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

În cazul mitocondriilor placentare izolate, respirația bazală dependentă de CI (Fig. 2A), a fost crescută la sarcinile cu PE fără FGR și a scăzut semnificativ în PE cu FGR, comparativ cu placentele sănătoase,

Adăugarea de ADP în prezența substratelor complexului mitocondrial I (glutamat, malat) induce respirația activă maximă (fosforilarea oxidativă, FOS-OX) (Fig. 2B); o creștere semnificativă de 123,57% apare în PE fără RCF față de sarcinile sănătoase, în timp ce în prezența RCF, FOS-OX a fost redusă la jumătate din cea măsurată la sarcinile fără PE.

Oligomicina, ca inhibitor al ATP-sintetazei, induce respirația LEAK sau respirația non-fosforilantă, comparativ cu lotul non-PE, mitocondriile placentare preeclaptice au prezentat o respirație non-fosforilantă mai mare cu 30,36% în non-RCF și 18,3% în RCF (Fig. 2C).

Respirația maximă decuplată depedentă de complexul I în prezența titrării CCCP a arătat o creștere de 59,18% în PE fără RCF și o scădere de 41% în PE cu RCF, în comparație cu sarcinile sănătoase (Fig. 2D).

IV. Contribuții privind disfuncția mitocondrială placentară legată de complexul II în sarcinile preeclaptice

Respirația bazală susținută de complexul II a fost evaluată în prezența succinatului, după adăugarea de rotenonă pentru a asigura inhibarea complexului I. Nu s-au constatat modificări ale respirației bazale la sarcinile cu PE față de sarcinile sănătoase, indiferent de prezența sau absența RCF, deși s-a observat o tendință de scădere pentru prima (Fig. 3A).

Adăugarea de ADP în prezența substratului complexului mitocondrial II (succinat) induce fosforilarea oxidativă (Fig. 3B), o creștere semnificativă de 42,7% apare în PE fără RCF comparativ cu sarcinile sănătoase, în timp ce în prezența RCF a fost raportată o scădere

semnificativă (46,5%), modificările sunt similare cu cele descrise anterior pentru respirația dependentă de CI.

Respirația non-fosforilantă sau respirația LEAK (Fig. 3C) nu a prezentat diferențe în consumul mitocondrial de oxigen între cele trei grupuri investigate, în mod similar cu rezultatele pentru respirația bazală.

Respirația maximă decuplată pentru complexul II mitocondrial a arătat doar o reducere semnificativă de 45,84% în prezența RCF în comparație cu sarcinile sănătoase (Fig. 3D).

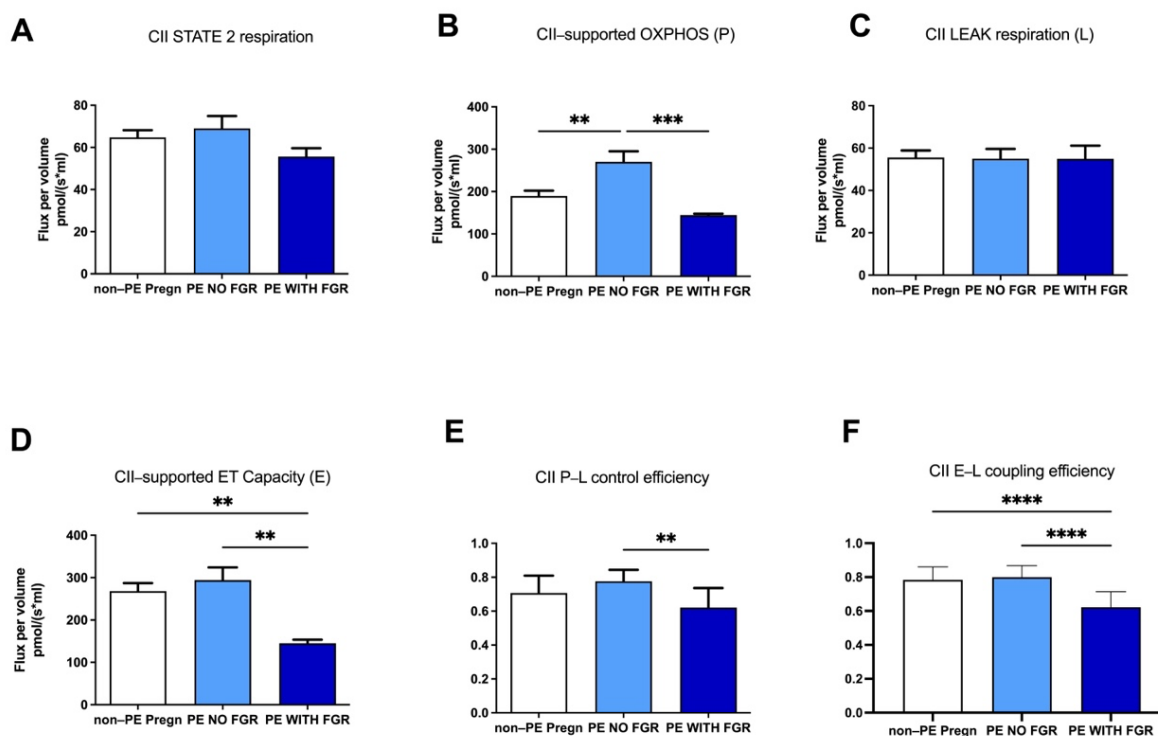


Figura 3 . Parametrii respirației mitocondriale placentare dependentă de complexul II (CII). A: Respirația bazală 2, B: Respirația maximă activă C: Respirația non-fosforilantă (LEAK), D: Respirația maximă decuplată (ET), E: Eficiența de control a FOS-OX; F: Eficiența de cuplare a respirației maxime. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

V. Contribuții privind speciile reactive de oxigen placentar în preeclampsie

Probele de placentă, recoltate din zonele centrale și periferice, au fost incubate cu dihidroethidium (DHE) fiind examinate în microscopie confocală pentru a evalua producția de SRO. Lotul preeclampctic (n=11) a fost subdivizat în funcție de severitate în forme ușoare (n=4) și forme severe (n=7) vs. martori, sarcinile sănătoase (n=8).

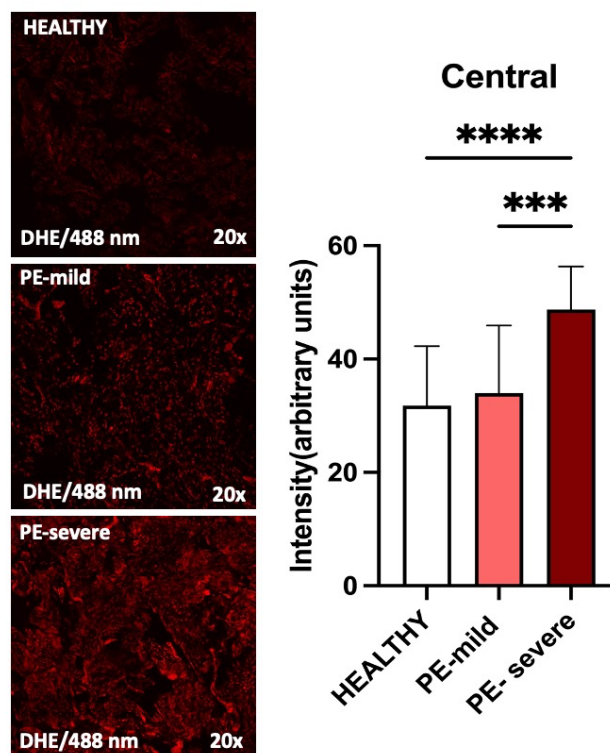


Figura 4 . Evaluarea stresului oxidativ placentar (colorația DHE) în zonele centrale, sarcini sănătoase vs. sarcini cu PE ușoară și severă. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

Imaginile de microscopie confocală au fost analizate cu ajutorul software-ului de analiză Icy Bioimage. Se observă niveluri mai ridicate de stres oxidativ în formele severe de PE în comparativ cu sarcinile sănătoase sau cu PE ușoară, indiferent de regiunea placentară (Fig. 4 și Fig. 5).

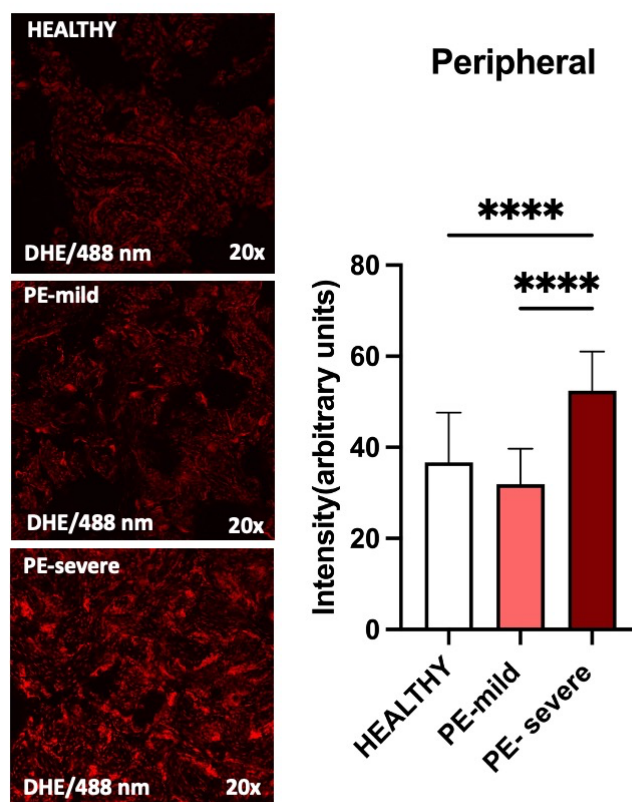


Figura 5 . Evaluarea stresului oxidativ placentar (colorația DHE) în zonele periferice, sarcini sănătoase vs. sarcini cu PE ușoară și severă. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

VI. Contribuții privind expresia monoaminooxidazei (MAO) la nivel placentar în preeclampsie

Evaluarea expresiei MAO a fost efectuată la nivelul secțiunilor congelate ca ARNm în la nivelul eşantioanelor de placentă prelevate de la gravide sănătoase (n=3) și de la cele cu PE severă (n=3). Ambele izoforme, MAO A (Fig. 6) și B (Fig. 7), au fost detectate în placentă, fiind supraexprimate în PE severă.

Nu s-a constatat nicio diferență între expresia genică a MAO la nivelul zonelor centrale comparativ cele periferice ale placentei la sarcinile sănătoase, cât și la cele preeclamptice (Fig. 6 și Fig. 7).

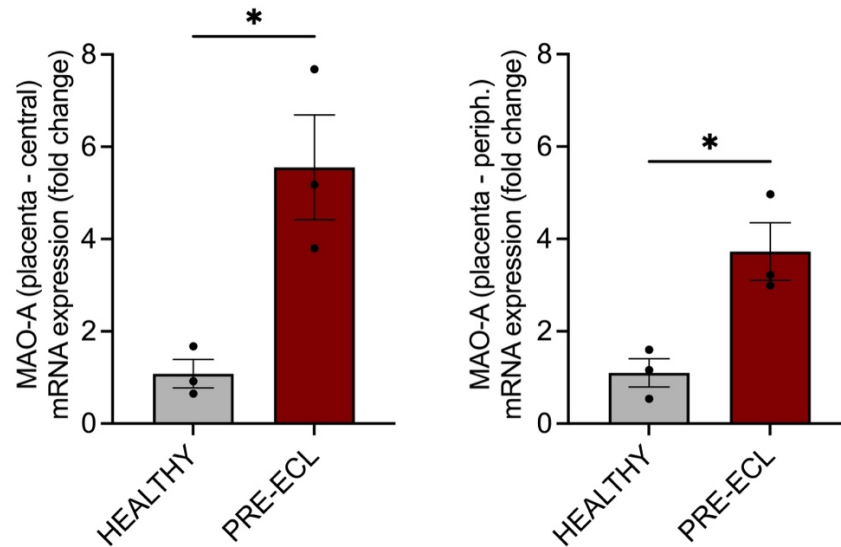


Figura 6 . Evaluarea expresiei genice placentare a izoformei MAO-A în probele centrale și periferice de la sarcini normale vs. PE severe. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM

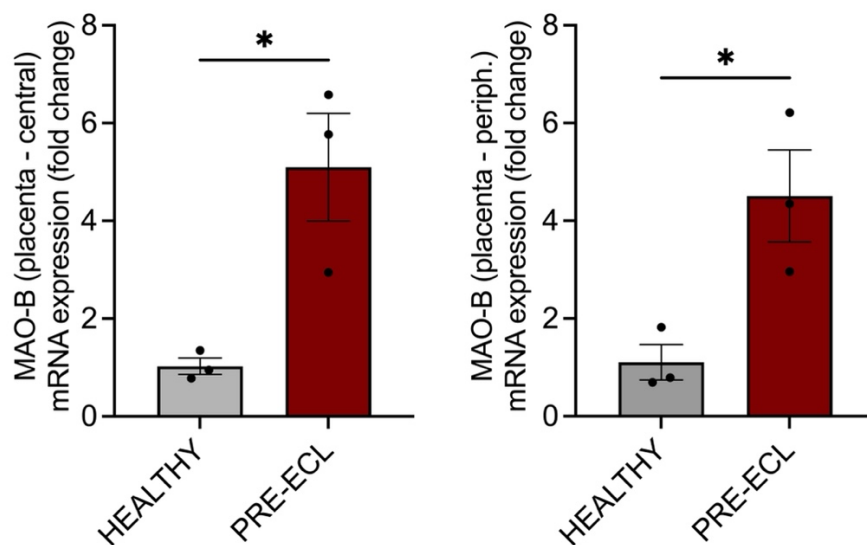


Figura 7 . Evaluarea expresiei placentare a izoformei MAO-B în probele centrale și periferice de la sarcini normale vs. PE sever. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM

VII. Contribuții la evaluarea stresului oxidativ sistemic în preeclampsie

Stresul oxidativ plasmatic a fost evaluat în formele ușoare și severe de preeclampsie față de sarcinile sănătoase prin măsurarea derivaților plasmatici ai metaboliților reactivi ai oxigenului (dROM) și respectiv, a statusului antioxidant (testul BAP), utilizând echipamentul (Diacron, Free Radical Analytical System 4, Grosseto, Italia).

Toate gravidele au prezentat niveluri mai ridicate de stres oxidativ, valorile fiind aproape duble la cele sănătoase, mai exact, valorile dROMs (Fig. 8A).

Invers, capacitatea antioxidantă a plasmei (testul BAP, Fig. 8B) a fost redusă la lotul martor și semnificativ crescută în cazul sarcinilor preeclamptice. Interesant, atât valorile dROMs, cât și cele ale testului BAP au fost similare în formele ușoare și severe de preeclampsie.

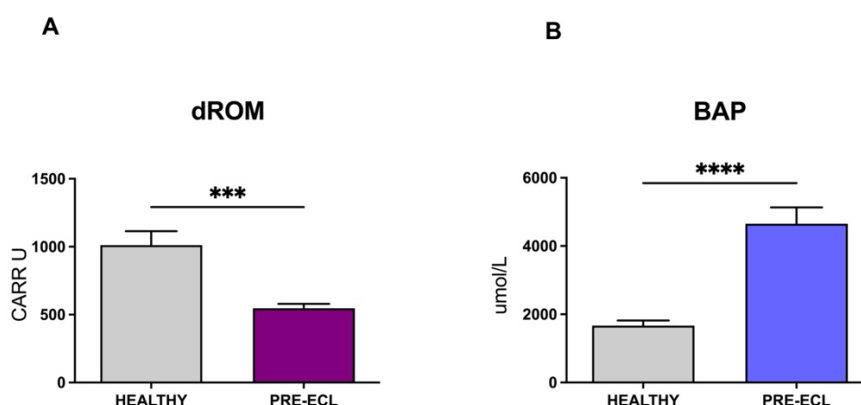


Figura 8 . A) Concentrațiile de derivați ai metaboliților reactivi ai oxigenului (d-ROM) și (B) potențialul antioxidant biologic (BAP) în plasma recoltată de la sarcini sănătoase și sarcini complicate de preeclampsie. Datele sunt prezentate ca medie \pm SEM.

VIII. CONCLUZII

Rezultatele raportate în cadrul tezei de doctorat corespund obiectivelor formulate în introducere.

Toate obiectivele stabilite la începutul studiilor doctorale au fost îndeplinite, iar rezultatele originale obținute contribuie la elucidarea fiziopatologiei complexe a disfuncției mitocondriale și a stresului oxidativ în preeclampsie.

Concluziile finale sunt următoarele:

1. Preeclampsia este asociată cu disfuncția mitocondrială trombocitară, evidențiată printr-o scădere a tuturor parametrilor respiratori: respirația bazală, respirația maximă activă și respirația maximă decuplată.
2. Scăderea respirației active maxime a afectat în principal complexul I al lanțului respirator, sugerând o afectare precoce a acestuia în preeclampsie.
3. Monitorizarea consumului de oxigen la nivelul celulelor sanguine periferice prin respirometrie de înaltă rezoluție permite o evaluare precisă a funcției mitocondriale respiratorii și poate reprezenta un biomarker periferic surogat al disfuncției bioenergetice a organelor în condiții patologice.
4. Disfuncția mitocondrială respiratorie plachetară este un potențial biomarker al stresului mitocondrial placentar în cadrul preeclampsiei.
5. Preeclampsia asociată cu restricția de creștere fetală a determinat disfuncții respiratorii mitocondriale placentare caracterizate printr-o scădere globală a respirației susținute de complexul I și o scădere parțială a respirației susținute de complexul II.

6. Sarcinile preeclampsice asociate cu feți cu greutate normală au prezentat o creștere a respirației mitocondriale placentare susținute de complexe I și II ale sistemului lanțului respirator.
7. Disfuncția mitocondrială respiratorie placentară pare a fi o caracteristică a preeclampsiei asociate cu restricția de creștere fetală, în timp ce în preeclampsia fără restricție de creștere se instalează modificări adaptative ale funcției respiratorii, observații care necesită investigații suplimentare pentru a elucidă mecanismele fiziopatologice.
8. Stresul oxidativ placentar este prezent doar în cazul formelor severe de preeclampsie.
9. Nu au fost observate diferențe regionale, în zonele centrale și periferice ale placentei, nici la sarcinile sănătoase, nici la cele preeclampsice.
10. Expresia monoaminooxidazei, o enzimă cu 2 izoforme, MAO-A și B, este crescută atât la nivel genic cât și la nivel proteic în țesutul placentar, recoltat de la cazurile cu preeclampsie severă.
11. Sarcinile sănătoase, dar nu și formele ușoare de preeclampsie, au fost asociate cu o creștere a stresului oxidativ sistemic evaluat prin cuantificarea derivaților metaboliților reactivi ai oxigenului.
12. Capacitatea antioxidantă a plasmei a fost mai mare în cazul sarcinilor preeclampsice comparativ cu cele sănătoase.

Contribuții originale:

- Investigarea în premieră internațională a funcției respiratorii mitocondriale placentare prin respirometrie de înaltă rezoluție în preeclampsie vs. sarcini sănătoase.
- Investigarea în premieră națională a funcției respiratorii mitocondriale placentare în preeclampsie și demonstrarea alterării acestora în relație cu restricția de creștere fetală.
- Investigarea generării ale SRO placentare zonele centrale și periferice în microscopie confocală (colorația cu DHE) în preeclampsie.
- Investigarea în premieră națională a contribuției MAO la stresul oxidativ placentar în preeclampsia severă.

Direcții viitoare ale cercetării:

- Evaluarea disfuncției mitocondriale respiratorii placentare și plachetare la pacientele cu preeclampsie, corelată cu prezența sau absența suferinței fetale.
- Investigarea mecanismelor care stau la baza creșterii funcției respiratorii placentare în preeclampsia cu feți cu greutate normală.
- Evaluarea modificărilor temporale ale funcției respiratorii mitocondriale trombocitare în evoluția preeclampsiei.
- Deoarece complexul I pare a fi afectat în primul rând în preeclampsie, este justificată investigarea compușilor farmacologici capabili să susțină funcția respiratorie mitocondrială dependentă de complexul II.
- Evaluarea disfuncției mitocondriale respiratorii placentare și plachetare în alte tulburări gestaționale, cum ar fi diabetul zaharat și obezitatea.
- Evaluarea contribuției monoaminooxidazei la stresul oxidativ placentar pe o cohortă mai mare de paciente cu preeclampsie ușoară și severă.

IX. LISTA DE PUBLICAȚII

1. **Bîă AM**, Aburel OM, Avram VF, Lelcu T, Lința AV, Chiriac DV, Mocanu AG, Bernad E, Borza C, Craina ML, Popa ZL, Muntean DM, Crețu OM. *Impairment of mitochondrial respiration in platelets and placentas: a pilot study in preeclamptic pregnancies*. **Mol Cell Biochem**. 2022 Apr 7. doi: 10.1007/s11010-022-04415-2. **ISI journal IF= 3.396**
2. **Bîă AM**, Sturza A, Iancu I, Mocanu AG, Bernad E, Chiriac DV, Borza C, Craina ML, Popa ZL, Muntean DM, Crețu OM. *Placental oxidative stress and monoamine oxidase expression are increased in severe preeclampsia: a pilot study*. **Mol Cell Biochem**. 2022 June 01. doi: 10.1007/s11010-022-04499. **ISI journal IF= 3.396**
3. **Bîă, AM**, Anechitei AI, Lelcu T, Lința AV, Chiriac DV, Mocanu AG, Bernad E, Popa ZL, Craina ML, Muntean DM, Borza C, Crețu OM. *Assessment of the systemic oxidative stress in preeclampsia*. **Serbian Journal of Experimental and Clinical Research**, vol.23, no.1, 2022, pp.45-50. <https://doi.org/10.2478/sjecr-2022-0010> **BDI journal**