

## **B. AUTOREFERAT**

### **B1. DANE OSOBOWE**

Imię, nazwisko: **Rafał Nazarewicz**

### **B. 2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE/ARTYSTYCZNE- Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

15 grudnia 2003

nadanie uchwałą Rady Wydziału Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie tytułu doktora nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia

25 czerwca 2003

- publiczna obrona rozprawy doktorskiej w SGGW w Warszawie

- tytuł rozprawy: *Wysiłek fizyczny a wybrane wskaźniki stanu odżywienia i poziomu stresu oksydacyjnego u młodzieży*

- promotor w przewodzie doktorskim: dr hab. Ewa Babicz-Zielińska, prof. nadzw. Akademii Morskiej w Gdyni

- recenzenci w przewodzie doktorskim:

prof. dr hab. Anna Gronowska-Senger,

dr hab. Jan Jeszka, prof. nadzw. Akademii Rolniczej w Poznaniu

20 czerwca 1997

ukończenie AWF w Gdańsku na wydziale i kierunku: Wychowanie Fizyczne i otrzymanie tytułu: magistra wychowania fizycznego w zakresie specjalności: Żywnienie człowieka

1993 ukończenie Liceum Ogólnokształcące nr II w Gdyni

**B. 3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH  
NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH**

<b>Okres zatrudnienia</b>	<b>Miejsce zatrudnienia</b>	<b>Stanowisko</b>
maj 2016-obecnie	Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku Wydział Rehabilitacji i Kinezyjologii Zakład Bioenergetyki i Żywienia	adiunkt
Lipiec 2011- obecnie	Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA	Research Instructor
Wrzesień 2014 – sierpień 2016	Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA	Visiting Faculty
Maj 2010- lipiec 2011	Emory University School of Medicine	Research Associate
Grudzień 2007- lipiec 2011	Emory University School of Medicine	Post-doctoral research
Czerwiec 2006- Grudzień 2007	Ohio State University School of Medicine	Post-doctoral research
Styczeń 2004- Wrzesień 2007	Akademia Morska w Gdyni	Adiunkt
Wrzesień 1997- Wrzesień 2004	Akademia Morska w Gdyni	Asystent
Wrzesień 1995- Czerwiec 1997	Akademia Wychowania Fizycznego w Gdańsku	Student asystent

**B. 4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 ROKU I STOPNIACH NAUKOWYCH ORAZ STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.)**

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie stanowi cykl publikacji pod wspólnym tytułem:

**„Nowe aspekty segmentacji sygnalizacji komórkowej modulowanej przez reaktywne formy tlenu w patogenezie wybranych chorób cywilizacyjnych”**

(IF: łącznie 66,234; MNISW: łącznie 361)

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Shirai T, **Nazarewicz RR**, Wallis BB, Yanes RE, Watanabe R, Hilhorst M, Tian L, Harrison DG, Giacomini JC, Assimes TL, Goronzy JJ, Weyand CM.

*The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease.* J Exp Med. 2016 Mar 7;213(3):337-54.

(IF: 11.991; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 30%: koncepcja badań, planowanie eksperymentów i ich realizacja, pozyskanie materiału do badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników, udział w pisaniu pracy.*

Dikalov SI, **Nazarewicz RR**, Bikineyeva A, Hilenski L, Lassègue B, Griendling KK, Harrison DG, Dikalova AE.

*Nox2-induced production of mitochondrial superoxide in angiotensin II-mediated endothelial oxidative stress and hypertension.* Antioxid Redox Signal. 2014 Jan 10;20(2):281-94.

(IF: 7.407; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 40%: koncepcja badań, planowanie eksperymentów i ich realizacja, pozyskanie materiału do badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników, udział w pisaniu pracy*

**Nazarewicz RR**, Dikalova AE, Bikineyeva A, Dikalov SI.

*Nox2 as a potential target of mitochondrial superoxide and its role in endothelial oxidative stress.* Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2013 Oct 15;305(8):H1131-40.

(IF: 4.012; MNiSW: 35)

*Wkład habilitanta 60%: koncepcja badań, planowanie eksperymentów i ich realizacja, pozyskanie materiału do badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników, udział w pisaniu pracy*

**Nazarewicz RR**, Dikalova A, Bikineyeva A, Ivanov S, Kirilyuk IA, Grigor'ev IA, Dikalov SI.

*Does scavenging of mitochondrial superoxide attenuate cancer pro-survival signaling pathways?* Antioxid Redox Signal. 2013 Aug 1;19(4):344-9.

(IF: 7.667; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 60%: koncepcja badań, planowanie eksperymentów i ich realizacja, pozyskanie materiału do badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników, udział w pisaniu pracy*

**Nazarewicz RR**, Bikineyeva A, Dikalov SI.

*Rapid and specific measurements of superoxide using fluorescence spectroscopy.* J Biomol Screen. 2013 Apr;18(4):498-503.

(IF: 2.012; MNiSW: 25)

*Wkład habilitanta 60%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, analiza statystyczna, interpretacja wyników, napisanie publikacji*

**Nazarewicz RR**, Salazar G, Patrushev N, San Martin A, Hilenski L, Xiong S, Alexander RW.

*Early endosomal antigen 1 (EEA1) is an obligate scaffold for angiotensin II-induced, PKC- $\alpha$ -dependent Akt activation in endosomes.* J Biol Chem. 2011 Jan 28;286(4):2886-95.

(IF: 4.773; MNiSW: 35)

*Wkład habilitanta 65%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, analiza statystyczna, interpretacja wyników, napisanie publikacji*

Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, **Nazarewicz RR**, McCann L, Lewis W, Harrison DG, Dikalov SI.

*Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension.* Circ Res. 2010 Jul 9;107(1):106-16.

(IF: 9.504; MNiSW: 32)

*Wkład habilitanta 25%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, analiza statystyczna, interpretacja wyników, pisanie publikacji*

**Nazarewicz RR**, Zenebe WJ, Parihar A, Larson SK, Alidema E, Choi J, Ghafourifar P. *Tamoxifen induces oxidative stress and mitochondrial apoptosis via stimulating mitochondrial nitric oxide synthase.* Cancer Res. 2007 Feb 1;67(3):1282-90.

(IF: 7.672; MNiSW: 24)

*Wkład habilitanta 60%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, analiza statystyczna, interpretacja wyników, pisanie publikacji*

Prace poglądowe:

Dikalov SI, **Nazarewicz RR**.

*Angiotensin II-induced production of mitochondrial reactive oxygen species: potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease.* Antioxid Redox Signal. 2013 Oct 1;19(10):1085-94.

(IF: 7.667; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 55%: współudział w analizie danych z piśmiennictwa i napisaniu publikacji.*

**Nazarewicz RR, Dikalov SI.**

*Mitochondrial ROS in the prohypertensive immune response.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2013 Jul 15;305(2):R98-100.

(IF: 3.529; MNiSW: 30)

*Wkład habilitanta 80%: koncepcja badań, planowanie eksperymentów i ich realizacja, pozyskanie materiału do badań, analiza statystyczna, interpretacja wyników, udział w pisaniu pracy*

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

c.1 Znaczenie kompartmentalizacji sygnału komórkowego w skuteczności farmakoterapii i suplementacji

Kompartmentalizacja sygnału komórkowego może odgrywać kluczowe znaczenie w projektowaniu skutecznej farmakoterapii oraz celowanej suplementacji [1]. Dlatego też badania nad organizacją sygnału komórkowego w różnych szlakach metabolicznych powinny być zintensyfikowane, i skupione nad dogłębnym poznaniem szczegółowych mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za powstawanie patologicznych zmian w różnych tkankach i komórkach z uwzględnieniem badań domen sygnalizacyjnych. Wiele terapii farmakologicznych lub suplementacji wskazuje na brak skuteczności, między innymi z powodu braku specyficznego działania ograniczonego do wybranych organelli komórkowych bez naruszenia homeostazy całej komórki. Podczas gdy wiele badań *in vitro* opartych na manipulacji ekspresji enzymów odpowiedzialnych za produkcję reaktywnych form tlenu (RFT) wskazują na ich kluczową rolę w regulacji sygnału komórkowego [2], badania kliniczne z wykorzystaniem związków regulujących poziom RFT w komórce (antyoksydantów, inhibitorów powstawania RFT), wskazują na brak ich skuteczności. W świetle badań prowadzonych w naszym laboratorium, powodem powyższej rozbieżności może być brak specyficzności działania wykorzystywanych antyoksydantów. Suplementacja antyoksydantami kierowanymi do określonych organelli komórkowych daje możliwość osiągnięcia znacznie wyższego stężenia antyoksydanta w danych organellach bez zmian w pozostałych częściach komórki. Stosowanie związków pozbawionych specyficzności w osiągnięciu danego celu komórkowego prowadzi do znacznego wzrostu stężenia w różnych organellach i związanego z tym oddziaływania

na różnorodne szlaki metaboliczne i sygnalizacyjne [1]. W efekcie związku te mogą naruszać homeostazę bez osiągnięcia zamierzonego celu. Seria naszych badań pokazuje klarownie, iż mitochondrialne RFT są niezwykle istotnym elementem regulującym sygnalizację komórkową w różnych typach komórek, włączając komórki endotelium, mięśniówki gładkiej czy komórki układu immunologicznego. Stosowanie suplementacji celowanej daje nowe możliwości prowadzenia badań nad specyficznymi organellami komórkowymi i ich rola w patologii, ale również otwiera nowe możliwości terapeutyczne.

## c.2 Znaczenie kompartmentalizacji sygnału komórkowego w patogenezie chorób układu krwionośnego

W naszych pracach staraliśmy się zidentyfikować organizację sygnalizacji w komórkach mięśniówki gładkiej, komórkach endotelium czy monocytach, mającej decydujące znaczenie dla powstawania chorób układu krwionośnego. W pracy zatytułowanej "EEA1 is an obligate scaffold for angiotensin II-induced PKC-dependent Akt activation" [3] wykazałem, w jaki sposób następuje organizacja sygnału komórkowego inicjowanego przez angiotensynę II, prowadząca do aktywacji jednej z kluczowych kinaz w szlakach sygnalizacji komórkowej, kinazy serynowo-treoninowej 1 (Akt1). Dowiodłem, że Akt1 wiąże się z białkiem odpowiedzialnym za fuzję wczesnych endosomów (EEA1), białkiem specyficznym dla endosomów, dając możliwość oddziaływania na wybrane cele w szlakach sygnalizacji komórkowej. Organizacja tego kompleksu może tłumaczyć wcześniej obserwowaną separację sygnału Akt1 od pozostałych szlaków sygnalizacji zależnej od RFT, takich jak Erk1/2. Wcześniejsze badania wskazywały na kolokalizację oksydazy NADPH 2 (NOX2) z EEA1 we wczesnych endosomach, jednakże rola NOX2 w tych organellach nie została wyjaśniona [4]. Obecność RFT-zależnej kinazy, Akt1, wraz z NOX2 we wczesnych endosomach nabiera nowego znaczenia w kontekście regulacji sygnalizacji komórkowej. Bliskość jednego z głównych źródeł ROS względem kompleksu białek, w którego skład wchodzi Akt1 daje możliwość specyficznego oddziaływania RFT na redox-zależne domeny w komórce. Nasze badania wskazują na rozdzielenie sygnału aktywującego Akt1 i jego dalsze oddziaływanie na Erk1/2, co jest niezmiernie istotne dla zrozumienia istoty proliferacji komórek mięśniówki gładkiej i powstawania chorób degeneracyjnych ściany naczyń krwionośnych.

### c.3 Nowa metoda detekcji anionorodnika ponadtlenkowego w materiale biologicznym

Mitochondria odgrywają znaczącą rolę w funkcjach komórki. Do tej pory, mitochondria były głównie przedmiotem badań ze względu na ich udział w energetyce komórkowej. Jakkolwiek badania dotyczące roli mitochondriów w sygnalizacji komórkowej są bardzo ograniczone i ich rola w warunkach patologicznych nie jest dokładnie poznana. Znaczącym czynnikiem regulującym sygnalizację komórkową inicjowaną w mitochondriach stanowią RFT. Jedną z przyczyn spowalniających badania nad funkcjami RFT w mitochondriach jest brak odpowiednich metod badawczych. Skuteczność pomiarów rodniaka ponadtlenkowego w miejscu jego powstawania uzależniona jest od precyzji i selektywności metod badawczych. Jedną z częściej używanych metod do badania  $O_2^-$  jest fluorescencyjny związek mitoSOX, który jest związkiem pochodnym od DHE (dihydroethidium). Obie formy etydyny, zarówno DHE jak i mitoSOX, specyficznie reagują z  $O_2^-$ . MitoSoX jest związkiem, który dzięki pozytywnemu ładunkowi pochodzącemu z grupy -TPP+ akumulowany jest w mitochondriach. Modyfikacja ta umożliwia pomiar  $O_2^-$  w mitochondriach. W trakcie reakcji oksydacji, dihydroethidium generuje 2OH-ethidium, związek obrazujący reakcje z  $O_2^-$ , jak również pulę związków niespecyficznych dla reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym, takich jak ethidium, które charakteryzują się silną fluorescencją. Dotychczas stosowane metody pozwalają na detekcję 2OH-ethidium wymagały zastosowania HPLC z detekcją fluoeresencji. Metoda ta ma znaczące ograniczenia w badaniach żywych i dynamicznych systemów, albowiem nie daje możliwości pomiarów  $O_2^-$  przy małej ilości materiału jak również nie daje rozdzielczości czasu. Do tej pory inne metody stosujące detekcję całkowitej fluorescencji nie dawały również możliwości separacji sygnału niespecyficznego ethidium i specyficznego 2OH-ethidium. Aby umożliwić tego rodzaju pomiary w systemach biologicznych, nasze laboratorium skupiło się na opracowaniu specjalnej metody pomiaru fluorescencji 2OH-ethidium i odseparowaniu od innych niespecyficznych sygnałów. Metoda nasza otworzyła możliwości specyficznej detekcji anionorodnika ponadtlenkowego w małych próbkach materiału biologicznego z rozdzielczością czasu, przy zastosowaniu powszechnie używanych instrumentów jak fluorescencyjny czytnik płytek czy cytometr przepływowy [5].

#### *Mitochondrialne reaktywne formy tlenu w sygnalizacji komórkowej*

Mitochondria mają znaczący udział w przemianach energetycznych i metabolicznych komórki. Funkcje metaboliczne wiążą się ze zwiększoną produkcją wolnych



rodników i stresu oksydacyjnego. Mitochondria produkują rodnik ponadtlenkowy i produkcja ta jest proporcjonalna do ich aktywności metabolicznej. Mitochondria wyposażone są zarówno w szereg systemów regulujących produkcję wolnych rodników jak i powstrzymujących nadmierną produkcję wolnych rodników, skutkującą powstawaniem stresu oksydacyjnego. Wolne rodniki generowane w mitochondriach, anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru, uwalniane są do cytoplazmy gdzie reagują z białkami i poprzez oksydacyjne modyfikację regulują ich funkcje. Białka, które ulegają oksydacji przez reaktywne formy tlenu i azotu mogą nie tylko tracić swoje podstawowe funkcje, ale również mogą zyskiwać nowe niepożądane właściwości. Na tej drodze dochodzi do znaczących zmian w sygnalizacji komórkowej oraz w konsekwencji do zmian fizjologii komórek. Ma to szczególne znaczenie w przypadku powstawania chorób związanych ze zmianami aktywności mitochondriów i nadprodukcją reaktywnych form tlenu. Poznanie mechanizmów regulujących ich wytwarzanie oraz modyfikujących sygnalizację komórkową, jest szczególnie ważne dla rozwoju nowych metod w farmakoterapii i celowanej suplementacji.

#### c.4 Rola mitochondriów oraz zależnej od nich sygnalizacji w dysfunkcji komórek endotelialnych

W serii naszych publikacji nad aktywnością metaboliczną mitochondriów komórek endothelium wykazaliśmy znaczący udział RFT w dysfunkcji komórek endotelialnych oraz wykazaliśmy funkcjonalną zależność NOX2 od aktywności mitochondriów [1, 6-8]. Nasze badania pokazały, iż NOX2 zwiększa produkcję rodnika ponadtlenkowego w mitochondriach zwierząt poddawanych działaniu angiotensyny II. Rodnik ponadtlenkowy jest przekształcany następnie do  $H_2O_2$ , aby zostać uwolniony do cytoplazmy. Cytoplazmatyczne  $H_2O_2$  uruchamia natomiast niepożądane zmiany w aktywności kinaz zależnych od RFT.

Nasze prace pokazały, że mechanizm ten ma duże znaczenie w powstawaniu nadciśnienia tętniczego i chorobie naczyń wieńcowych. Nasza publikacja zatytułowana "Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension" otworzyła nowe obszar badań na temat zależności NOX2 od aktywności mitochondriów [1]. W pracy tej pokazaliśmy, że angiotensyna II uruchamia sygnalizację komórkową, w której kinaza białkowa C (PKC) aktywuje białko p47Phox i małe białko G z rodziny Rho (Rac1), co doprowadza do aktywacji NOX2 i zwiększonej produkcji  $O_2^{\bullet-}$ . Zwiększona koncentracja  $O_2^{\bullet-}$  w cytoplazmie prowadzi do przenikania  $O_2^{\bullet-}$  i jego produktów do innych organelli komórkowych włączając mitochondria. Oksydacja białek mitochondrialnych upośledza działanie błony mitochondrialnej, wywołując spadek potencjału błony mitochondrialnej i w konsekwencji zmniejszenie syntezy ATP

w mitochondriach. Innym negatywnym skutkiem tego procesu jest odwrócony przepływ elektronów przez łańcuch oddechowy i zwiększona produkcja  $O_2^{\bullet-}$  przez mitochondria. Uwalniany przez mitochondria  $O_2^{\bullet-}$  ulega dysmutacji do  $H_2O_2$  i ten z kolei powoduje oksydację kinazy tyrozynowej c-Src. Kinaza ta reguluje aktywność NOX2. W efekcie tego procesu dochodzi do pozytywnej stymulacji NOX2 w mitochondriach. W naszych badaniach wykazaliśmy, iż specjalnie zsyntezowany związek mitoTempo, który skierowany jest do mitochondriów może przerwać ten negatywny ciąg zdarzeń i zapobiec mechanizmowi zwrotnemu. Wyniki te zostały dodatkowo potwierdzone przez specyficzny model zwierzęcy w którym, zwiększona produkcja  $O_2^{\bullet-}$ , spowodowana redukcją ekspresji SOD2, zwiększa aktywność NOX2 i nasila działanie angiotensyny II w powstawaniu nadciśnienia tętniczego [1].

W kolejnych publikacjach przedstawiliśmy bardziej szczegółowy mechanizm molekularny, który wspiera aktywację NOX2 poprzez działanie mitochondriów. W naszej pracy [6] wykazaliśmy, że oksydacja kanału potasowego zależnego od ATP odpowiada za odwrócony przepływ elektronów (reverse electron transfer, RET) przez mitochondrialny łańcuch oddechowy i nadprodukcję anionorodnika ponadtlenkowego. Nasza praca pokazała, że zahamowanie RET w mitochondriach zmniejsza aktywność NOX2, głównej oksydazy NADPH zależnej oksydazy rezydującej w błonie komórkowej. Aktywacja mitochondrialnego kanału potasowego zależnego od ATP poprzez zastosowanie diazoxide, agonisty kanału, przynosi podobne efekty jak działanie angiotensyny II. W modelu zwierzęcym wykazaliśmy, że mechanizm ten może potencjalnie odgrywać rolę w powstawaniu dysfunkcji komórek endotelialnych i nadciśnienia tętniczego [6]. Zastosowanie antyoksydantu skierowanego do mitochondriów powstrzymywało negatywnie zmiany w komórkach endotelialnych i zapobiegało rozwojowi powstawania nadciśnienia tętniczego. Zastosowanie związków, które powstrzymują odwrócony przepływ elektronów w mitochondriach takich jak jabłczan czy rotenon, hamujących działanie mitochondrialnego ATP-zależnego kanału potasowego poprzez inhibicję jednostki regulującej ( $PKC\epsilon$ ) przynosiło takie same efekty na aktywność NOX2 jak bezpośrednia inhibicja tego enzymu poprzez zastosowanie specyficznego peptydu blokującego jego aktywność. Długoletnie badania nad nadciśnieniem tętniczym klarownie pokazywały udział NADPH zależnej oksydazy jak i nadtlenu ponadtlenkowego w patogenezie tej choroby. Mimo tego badania kliniczne, w których wykorzystywano antyoksydanty takie jak witamina C lub E nie przynosiły pożądaných rezultatów. Nasze badania wskazują, że niespecyficzne antyoksydanty nie adresują rzeczywistych zmian w komórce i nie ograniczają produkcji  $O_2^{\bullet-}$  w mitochondriach, istotnego źródła tego oksydantu regulującego sygnalizację komórkową, kluczową dla powstawania nadciśnienia.

c.5 Znaczenie aktywacji układu immunologicznego w patogenezie chorób układu krwionośnego. Mechanizm regulacji sygnalizacji komórkowej.

Istotnym elementem przyspieszającym choroby układu krwionośnego, jak nadciśnienie i choroba naczyń wieńcowych, jest aktywacja układu immunologicznego [9]. Cytokiny produkowane przez limfocyty i makrofagi doprowadzają do dysfunkcji komórek naczyń krwionośnych wielu organów. Nasze badania wykazały, że kombinacja interleukiny IL-17A, TNF-alfa oraz angiotensyny ma szczególnie negatywne działanie na funkcje naczyń krwionośnych [7]. Synergistyczne patologiczne działanie tych cytokin i hormonu powoduje zmiany oksydacyjne cyklofiliny D i w konsekwencji zaburzenia relaksacji naczyń krwionośnych, co przyczynia się do nadciśnienia tętniczego. Nasze badania wykazują, iż nadmiar  $O_2^{\bullet-}$  w komórkach powoduje patologiczne konsekwencje. W przypadku komórek endotelialnych nadmiar reaktywnych form tlenu prowadzi do zaburzeń funkcji mitochondriów i niedoboru tlenu azotu, co z kolei prowadzi do zaburzeń relaksacji naczyń krwionośnych i nadciśnienia tętniczego. Nasze badania na komórkach układu immunologicznego wykazały, że reaktywne formy tlenu, w szczególności  $O_2^{\bullet-}$ , powoduje niepożądane zmiany w funkcji monocytów, limfocytów i makrofagów. W pracy "The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease" wykazaliśmy, że  $O_2^{\bullet-}$  odpowiada za oksydacyjne modyfikacje kluczowego enzymu glikolizy, kinazy pirogronianowej (PKM2) i w konsekwencji zaburzenia równowagi pomiędzy formą monomeryczną, di- i tetrameryczną tego enzymu [10]. PKM2, aby utrzymać swoją funkcję w przemianach glikolitycznych musi pozostawać w formie tetrameru. W formie dimeru enzym ten traci swoje funkcje metaboliczne i może pozyskiwać nowe funkcje kinazy odpowiedzialnej za fosforylację STAT3 (białko przekazujące sygnał i regulujące transkrypcję). Forma dimeru PKM2 ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie wiąże się z STAT3 i zwiększa jego fosforylację. STAT3 jest kluczowym białkiem regulującym transkrypcję cytokin, interleukiny IL-6 i IL-2, które z kolei pełnią krytyczną funkcję w rozwoju chorób układu krwionośnego i związanymi z nim destrukcyjnymi zmianami w narządach peryferyjnych. W naszej pracy wykazaliśmy, że PKM2 ulega modyfikacji, która zależna jest od produkcji anionorodnika ponadtlennkowego w mitochondriach, aktywności metabolicznej mitochondriów i glikolizy [10]. Wykazaliśmy, że monocyty jak i makrofagi wyizolowane od pacjentów z chorobą niedokrwinną mięśnia sercowego charakteryzują się nadprodukcją anionorodnika ponadtlennkowego w mitochondriach, który odpowiada za zwiększoną produkcję IL-6 i IL-2 za pośrednictwem PKM2.

Mediatory stanu zapalnego, cytokiny i interleukiny, przyczyniają się do rozwoju nadciśnienia tętniczego poprzez ich działanie na organy peryferyjne, ale również istnieje możliwość ich działania na inne komórki kluczowe dla układu krwionośnego. W pracy "Mitochondrial Cyclophilin D in Vascular Oxidative Stress and Hypertension", zajęliśmy się badaniem efektu połączonego działania interleukiny 17A, TNF-alfa oraz angiotensyny II na komórki endotelialne [7]. Analiza funkcji endotelium wskazała na skomplikowany mechanizm, w którym kluczową rolę odgrywa mitochondrialny anionorodnik ponadtlenkowy regulujący działanie cyklofiliny D. Produkcja anionorodnika ponadtlenkowego u myszy z zahamowaną ekspresją cyklofiliny D była znacząco ograniczona. Obserwowaliśmy również znaczący spadek ciśnienia tętniczego oraz poprawę funkcji i relaksacji mięśniówki gładkiej w stosunku do myszy, u których ekspresja cyklofiliny D była zachowana. Analiza mechanizmu molekularnego wskazała na oksydacyjne modyfikacje cyklofiliny D. Zarówno na modelu komórkowym, jak i zwierzęcym wykazaliśmy S-glutathionylację cyklofiliny D. Negatywne efekty działania anionorodnika ponadtlenkowego zniwelowane były przez zastosowanie mitoEbselenu, antyoksydanta wyłapującego nadtlenek wodoru, skierowanego specyficznym do mitochondriów. W modelu komórkowym poprawa funkcji komórek endotelialnych była osiągnięta poprzez nadekspresję SOD2 i katalazy. Podsumowując, nasze badania wskazały na specyficzną rolę mitochondrialnych RFT w regulacji funkcji komórek układu immunologicznego i potencjalnych możliwości interwencji z użyciem suplementacji celowanej w zapobieganiu chorob układu krwionośnego.

#### c.6 Suplementacja celowana w chorobach zależnych od mitochondrialnych reaktywnych form tlenu

Regulacja sygnalizacji komórkowej poprzez aktywne formy tlenu generowane przez mitochondria odgrywa istotną rolę w szybko dzielących się komórkach. W naszych pracach na modelu komórkowym czerniaka wykazaliśmy, że anionorodnik ponadtlenkowy może regulować sygnalizację komórkową, która odpowiada za proliferację komórek [11]. Reaktywne formy tlenu uwalniane z mitochondriów aktywują Akt, kinazę odpowiedzialną za odporność komórek na działanie czynników uruchamiających szlaki apoptotyczne. Zastosowanie antyoksydantów, które są kierowane specyficznym do mitochondriów, daje przewagę nad dotychczas stosowanymi antyoksydantami, które działają niespecyficznym i nie mają możliwości osiągnięcia wystarczającej koncentracji w poszczególnych organellach komórkowych. Nasza analiza koncentracji powszechnie stosowanych antyoksydantów takich

jak Tempol, wykazuje, iż mają one wielokrotnie niższą koncentrację niż antyoksydanty specyficznym skierowane do mitochondriów. Mitotempo może osiągnąć zaś 1000 razy wyższe stężenie niż Tempol przy zastosowaniu takiej samej dawki obydwu związków [1]. Nasze badania przedstawione w powyższym opracowaniu pokazują kluczową rolę mitochondrialnych reaktywnych form tlenu i konieczność zastosowania niekonwencjonalnych metod ich neutralizacji. Tradycyjnie stosowane antyoksydanty, zgodnie z dotychczas przeprowadzonymi badaniami nie wykazują skuteczności. Nasze dotychczasowe badania na modelach komórkowych, zwierzęcych oraz z wykorzystaniem komórek wyizolowanych od pacjentów, pokazują jednoznacznie skuteczność specyficznym i lokalnie działających antyoksydantów, i wskazują na istnienie konieczności podjęcia szerszych badań, które odpowiedzą na pytanie czy antyoksydanty skierowane do mitochondriów mogłyby stanowić część działań leczniczych w chorobach, w których reaktywne formy tlenu odgrywają decydujące znaczenie.

## **Wnioski**

Do najistotniejszych moich osiągnięć zaliczyć mogę:

1. Ustanowienie roli mitochondrialnego anionorodnika ponadtlenkowego w patogenezie dysfunkcji endotelium.
2. Ustanowienie roli aktywności mitochondriów w regulacji NOX2 oraz wyjaśnienie mechanizmu molekularnego stojącego za tą regulacją.
3. Opracowanie nowych metod farmakoterapii i suplementacji celowanej w niwelowaniu skutków chorób układu krwionośnego.
4. Opracowanie nowych metod pomiaru mitochondrialnego anionorodnika ponadtlenkowego pozwalających na pomiary w modelach biologicznych opartych na żywych komórkach.
5. Wyjaśnienie roli mitochondrialnych RFT w regulacji aktywności komórek układu immunologicznego w warunkach chorób układu krwionośnego.

## **Piśmiennictwo:**

1. Dikalova, A.E., et al., *Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension*. Circ Res, 2010. **107**(1): p. 106-16.
2. Matsuno, K., et al., *Nox1 is involved in angiotensin II-mediated hypertension: a study in Nox1-deficient mice*. Circulation, 2005. **112**(17): p. 2677-85.
3. Nazarewicz, R.R., et al., *Early endosomal antigen 1 (EEA1) is an obligate scaffold for angiotensin II-induced, PKC-alpha-dependent Akt activation in endosomes*. J Biol Chem, 2011. **286**(4): p. 2886-95.
4. Li, Q., et al., *Endosomal Nox2 facilitates redox-dependent induction of NF-kappaB by TNF-alpha*. Antioxid Redox Signal, 2009. **11**(6): p. 1249-63.
5. Nazarewicz, R.R., A. Bikineyeva, and S.I. Dikalov, *Rapid and specific measurements of superoxide using fluorescence spectroscopy*. J Biomol Screen, 2013. **18**(4): p. 498-503.
6. Dikalov, S.I., et al., *Nox2-induced production of mitochondrial superoxide in angiotensin II-mediated endothelial oxidative stress and hypertension*. Antioxid Redox Signal, 2014. **20**(2): p. 281-94.
7. Itani, H.A., et al., *Mitochondrial Cyclophilin D in Vascular Oxidative Stress and Hypertension*. Hypertension, 2016. **67**(6): p. 1218-27.
8. Nazarewicz, R.R., et al., *Nox2 as a potential target of mitochondrial superoxide and its role in endothelial oxidative stress*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013. **305**(8): p. H1131-40.
9. Guzik, T.J., et al., *Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction*. J Exp Med, 2007. **204**(10): p. 2449-60.
10. Shirai, T., et al., *The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease*. J Exp Med, 2016. **213**(3): p. 337-54.
11. Nazarewicz, R.R., et al., *Does scavenging of mitochondrial superoxide attenuate cancer pro-survival signaling pathways?* Antioxid Redox Signal, 2013. **19**(4): p. 344-9.

**II. WYKAZ INNYCH (NIE WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA WYMIENIONEGO W PKT B4 IB) OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH ORAZ WSKAŹNIKI DOKONAŃ NAUKOWYCH**

**a) Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC):**

**PRACE PO DOKTORACIE:**

Dikalova AE, Itani HA, **Nazarewicz RR**, McMaster WG, Flynn CR, Uzhachenko R, Fessel JP, Gamboa JL, Harrison DG, Dikalov SI.

*Sirt3 Impairment and SOD2 Hyperacetylation in Vascular Oxidative Stress and Hypertension.* Circ Res. 2017 Aug 18;121(5):564-574. (IF: 13,965; MNiSW: 50)

*Wkład habilitanta 20%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, interpretacja wyników.*

Itani HA, Dikalova AE, McMaster WG, **Nazarewicz RR**, Bikineyeva AT, Harrison DG, Dikalov SI.

*Mitochondrial Cyclophilin D in Vascular Oxidative Stress and Hypertension.* Hypertension. 2016 Jun;67(6):1218-27. (IF: 6.857; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 20%: koncepcja badań, planowanie eksperymentu i jego realizacja, pozyskanie materiału do badań, wykonanie pomiarów, interpretacja wyników.*

Itani HA, McMaster WG Jr, Saleh MA, **Nazarewicz RR**, Mikołajczyk TP, Kaszuba AM, Konior A, Prejbisz A, Januszewicz A, Norlander AE, Chen W, Bonami RH, Marshall AF, Poffenberger G, Weyand CM, Madhur MS, Moore DJ, Harrison DG, Guzik TJ.

*Activation of Human T Cells in Hypertension: Studies of Humanized Mice and Hypertensive Humans.* Hypertension. 2016 Jul;68(1):123-32. (IF: 6.857; MNiSW: 45)

*Wkład habilitanta 10%: zainicjowanie projektu i wykonanie badań wstępnych*

Praca powstała w ramach współpracy między Vanderbilt University, Stanford University i Glasgow University. Wyniki wskazują na aktywację limfocytów T w nadciśnieniu tętniczym. Przy użyciu modelu zwierzęcego z przeszczepionym ludzkim układem systemu immunologicznego pokazaliśmy infiltrację limfocytów do organów peryferyjnych takich jak: nerki, aorta oraz systemu limfatycznego. Wywołanie nadciśnienia tętniczego wiązało się z akumulacją komórek pamięci immunologicznej (memory T cells). Zastosowanie hydralazyny i hydrochlorotiazide powstrzymywało rozwój nadciśnienia i infiltrację limfocytów. Wykazaliśmy również, że angiotensyna II nie miała żadnego bezpośredniego wpływu na monocyty i/lub limfocyty. Komórki immunologiczne były aktywowane w następstwie zmian degeneracyjnych wywołanych nadciśnieniem.

Xiong S, Salazar G, San Martin A, Ahmad M, Patrushev N, Hilenski L, **Nazarewicz RR**, Ma M, Ushio-Fukai M, Alexander RW.

*PGC-1 alpha serine 570 phosphorylation and GCN5-mediated acetylation by angiotensin II drive catalase down-regulation and vascular hypertrophy.* J Biol Chem. 2010 Jan 22;285(4):2474-87 (IF: 5,328; MNiSW: 32)

*Wkład habilitanta 5%:* polegał na pomocy w planowaniu eksperymentów, analizie i interpretacji danych

W pracy tej pokazaliśmy mechanizm odpowiedzialny za inhibicję ekspresji katalazy w komórkach mięśniówki gładkiej aorty w odpowiedzi na działanie angiotensyny II i mechanizmu przyczyniającego się do gwałtownej proliferacji tych komórek. Nasze wyniki wskazały na kluczową rolę Akt1 i PGC1-alpha w regulacji hipertrofii komórek mięśniowych aorty.

Parihar MS, **Nazarewicz RR**, Kincaid E, Bringold U, Ghafourifar P.

*Association of mitochondrial nitric oxide synthase activity with respiratory chain complex I.* Biochem Biophys Res Commun. 2008 Feb 1;366(1):23-8. (IF: 2,648 ; MNiSW: 20)

*Wkład habilitanta 30%:* polegał na przygotowaniu materiału biologicznego, wykonaniu części oznaczeń oraz udziale w przygotowaniu manuskryptu.



W pracy tej pokazaliśmy funkcjonalną zależność pomiędzy mitochondrialnym kompleksem I łańcucha oddechowego i produkcją tlenku azotu w mitochondriach. Nasze obserwacje wskazały na nieodzowną rolę mitochondriów w regulacji poziomu NO w komórce.

**Nazarewicz RR**, Zenebe WJ, Parihar A, Parihar MS, Vaccaro M, Rink C, Sen CK, Ghafourifar P.

*12(S)-hydroperoxyeicosatetraenoic acid (12-HETE) increases mitochondrial nitric oxide by increasing intramitochondrial calcium.* Arch Biochem Biophys. 2007 Dec 1;468(1):114-20. (IF: 2,578; MNiSW: 20)

*Wkład habilitanta 50%:* polegał na przygotowaniu materiału biologicznego, wykonaniu części oznaczeń oraz przygotowaniu manuskryptu.

Projekt zaprezentowany w powyższej publikacji miał na celu wyjaśnienie działania 12-HETE na mitochondria i jego konsekwencje dla komórki. Nasze badania pokazały, iż negatywne działanie 12-HETE mediowane jest przez jony wapnia uwalniane w mitochondriach, co prowadzi do nadprodukcji Reaktywnych Form Azotu (RFA).

Ghafourifar P, Mousavizadeh K, Parihar MS, **Nazarewicz RR**, Parihar A, Zenebe WJ. *Mitochondria in multiple sclerosis.* Front Biosci. 2008 Jan 1;13:3116-26. (IF: 3,308 ; MNiSW: 20)

*Wkład habilitanta 10%:* udział w przygotowaniu manuskryptu.

W pracy tej przedstawiliśmy koncept mechanizmu powstawania stwardnienia rozsianego, w którym RFT i RFA odgrywają znaczącą rolę w degeneracji komórek nerwowych.

**Nazarewicz RR**, Ziolkowski W, Vaccaro PS, Ghafourifar P.

*Effect of short-term ketogenic diet on redox status of human blood.* Rejuvenation Res. 2007 Dec;10(4):435-40. (IF: 4,728 ; MNiSW: 24)

*Wkład habilitanta 50%:* polegał na przygotowaniu materiału biologicznego, wykonaniu części oznaczeń oraz przygotowaniu manuskryptu.

Celem tego projektu była ocena wpływu diety wysokotłuszczowej na potencjał antyoksydacyjny. Przeprowadzone badania we krwi osób stosujących dietę ketogeniczną wskazały na pozytywne działanie diety na możliwości obrony przed stresem oksydacyjnym.

Parihar A, Parihar MS, **Nazarewicz R**, Ghafourifar P.

*Importance of cytochrome c redox state for ceramide-induced apoptosis of human mammary adenocarcinoma cells.* Biochim Biophys Acta. 2010 Jul;1800(7):646-54. (IF: 4,663; MNiSW: 27)

*Wkład habilitanta 10%:* udział w przygotowaniu manuskryptu.

Wykazaliśmy, iż ceramidy powodują zmianę stanu oksydoredukcyjnego cytochromu c i jego uwalnianie z mitochondriów. Stan redukcyjny cytochromu c determinuje jego reaktywność z ceramidami.

**b) Udzielone patenty międzynarodowe i krajowe:** brak

**c) Wynalazki oraz wzory użytkowe i przemysłowe, które uzyskały ochronę i zostały wystawione na międzynarodowych lub krajowych wystawach lub targach:** brak

**d) Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie, o której mowa w pkt B4 IIa:**

PRACE PO DOKTORACIE

### **Praca pogładowa**

Ghafourifar P, Parihar MS, **Nazarewicz R**, Zenebe WJ, Parihar

*A Detection assays for determination of mitochondrial nitric oxide synthase activity; advantages and limitations.* Methods Enzymol. 2008;440:317-34.

*Wkład habilitanta 25%:* polegał pisaniu i korekcie pracy.

## PRACE PRZED DOKTORATEM

**Nazarewicz R**, Babicz-Zielińska E.

*Selected indices of nutritional status and food habits among young ballet dancers* Rocz Panstw Zakl Hig. 2000;51(4):393-401.

**Nazarewicz R.**

*Powszechność stosowania suplementów chroniących przed stresem oksydacyjnym w grupie wegetarian*, Żywnienie człowieka i metabolizm, 2005, 32, 461-466.

Kabacińska A., **Nazarewicz R.**

*Czynniki wyboru oraz częstotliwość spożycia żywności wygodnej w wybranej grupie konsumentów*. Roczniki Naukowe SERiA, 2005, 8, 93-97.

**Nazarewicz R.**, Babicz-Zielińska E.

*Spożycie białka w wybranych grupach młodzieży o różnej aktywności fizycznej a zalecenia żywieniowe dla sportowców*, Roczn. PZH, 2004, 4, 325-330.

**Nazarewicz R**, Babicz-Zielińska E.

*Przebieg stresu oksydacyjnego w wybranych grupach sportowców w trakcie wysiłków o różnej intensywności*, Bromat. Chem. Toksykol., 2004, supl., 65-68.

Babicz-Zielińska E., **Nazarewicz R**, Polańska A.

*Zwyczaje żywieniowe osób palących papierosy*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2003, 30, 53-56.

**Nazarewicz R**, Babicz-Zielińska E.

*Ocena natężenia stresu oksydacyjnego w następstwie wysiłku fizycznego wśród dziewcząt: rola podaży białka*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2003, 30, 284-289.

Rybowska A., **Nazarewicz R**, Babicz-Zielińska E. *Model spożycia alkoholu wśród młodzieży akademickiej*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2003, 30, 423-427.

Babicz–Zielińska E., **Nazarewicz R**, Schlegel-Zawadzka M.

*Postrzeganie własnej sylwetki a możliwości występowania zaburzeń w odżywianiu w grupie nastolatków*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2002, 29 Supl. 366–370.

**Nazarewicz R**, Babicz–Zielińska E.

*Preferencje i częstotliwość spożycia wybranych produktów w grupach młodzieży o zróżnicowanej aktywności fizycznej*, Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2002, 29 Supl. 345–349.

**Nazarewicz R**, Rybowska A., Babicz–Zielińska E.

*Ocena preferencji warzyw i owoców wśród młodzieży szkolnej i akademickiej*, Zeszyty Naukowe AM 45, 47–51, 2002.

Rybowska A., **Nazarewicz R**., Babicz–Zielińska E.

*Znajomość żywieniowych czynników ryzyka miażdżycy w środowisku młodzieży szkolnej i akademickiej*, Zeszyty Naukowe AM 45, 74–80, 2002.

Rybowska A., **Nazarewicz R**, Babicz–Zielińska E.

*Czynniki wpływające na preferencje i spożycie produktów mlecznych w środowisku młodych kobiet*, Zeszyty Naukowe AM 45, 81–86, 2002.

**Nazarewicz R**, Zabrocki R.

*Różnice regionalne w spożyciu żywności fast food* Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 2001, 28 Supl. 520–524.

**Nazarewicz R**, Babicz–Zielińska E.

*Wpływ palenia tytoniu na zdrowie i preferencje żywieniowe palaczy*, Bromat. Chem. Toksykol., 2000, 3, 257–262.

**Nazarewicz R**, Babicz–Zielińska E.

*Wybrane wskaźniki stanu odżywienia oraz upodobania żywieniowe młodzieży szkoły baletowej*, Roczn. PZH, 2000, 4, 393–401.

**Nazarewicz R.**, Babicz–Zielińska E., Oleradzka J.

Ocena sposobu żywienia dziewcząt na podstawie wywiadu z ostatnich 24 godzin, *Żyw. Czł. Met.* 2000, XXVII, Supl. 197–200.

Babicz–Zielińska E., **Nazarewicz R.**, Dąbrowska A.

*Ocena występowania zaburzeń w odżywianiu wśród dziewcząt w wieku pokwitania*, *Problemy wieku dojrzewania cz. II Prozdrowotny styl życia, Problemy Higieny*, 2000, 69, 58–60.

**e) Opracowania zbiorowe, katalogi zbiorów, dokumentacja prac badawczych, ekspertyz, utworów i dzieł artystycznych:**

Sergey Dikalov, **Rafal Nazarewicz**

*Measurements of Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Studies*. In I. Laher (ed.), *Systems Biology of Free Radicals and Anti-Oxidants*, 2014, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

**f) Sumaryczny *impact factor* według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: 132,888**

**g) Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): 932**

**h) Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): 16**

**i) Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach:**

2014-2018 "T-cell mitochondrial ROS in development of hypertension." American Heart Association; Kierownik projektu

2010-2014 "Mitochondrial Oxidative Stress in Angiotensin II-induced Endothelial Dysfunction" National Institute of Health; wykonawca

2006 Grant wyjazdowy Akademii Morskiej w Gdyni do Ohio State University,

2004-2006 Efekty diety na stress oksydacyjny u osob z różna aktywnością fizyczna. Komitet Badań Naukowych, Polska, Główny wykonawca.

2002-2003 Konsekwencje spożycia roznych poziomow bialka i aktywnosci fizycznej na stan odzywienia. Komitet Badan Naukowych, wspolwykonawca

**j) Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną:**

**Nagroda:** brak

**k) Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych:**

1. Nazarewicz RR, Shirai T, Jamey Young, Barbara B, Tian L, Harrison DG, Wallis BB, Goronzy JJ, Weyand CM. *Mitochondrial ROS mediates PKM2 kinase activity to promote proinflammatory activity of human macrophages in coronary artery disease. APS , Inflammation, Immunity and Cardiovascular Disease, Westminster, CO 2016.*
2. Nazarewicz RR, Dikalova A, Bikineyeva A, Egnatchik R, Young J, Harrison DG, Dikalov SI. *T cell mitochondrial ROS in development of hypertension. Experimental Biology Meeting, San Diego, California, 2014.*
3. Nazarewicz RR, Dikalova A, Bikineyeva A, Harrison DG, Dikalov SI. *Mitochondrial ROS in the pro-hypertensive immune response. Experimental Biology Meeting, Boston, MA, 2013*
4. Nazarewicz R, Bikineyeva A, Harrison DG, Dikalov S. *Rapid and Specific Measurements of Superoxide Using Fluorescence Spectroscopy. Experimental Biology Meeting, San Diego, California, 2012*
5. Nazarewicz R, Dikalova A, Bikineyeva A, Hilenski L, Mayorov V, Lassègue B, Harrison D, Griending K, Dikalov S. *Mechanism regulating cytoplasmic superoxide production by mitochondria. Experimental Biology Meeting, Washington, 2011.*

6. Nazarewicz R, Dikalova A, Bikineyeva A, Hilenski L, Lassègue B, Harrison D, Griendling K, Dikalov S. *Mitochondrial ATP-Sensitive Potassium Channel Regulates Cytoplasmic NADPH Oxidase Activity through Mitochondrial Superoxide*. SFRBM Annual Meeting, Orlando 2010, Free Rad Biol Med 2010,
7. Nazarewicz RR, Salazar G, Patrushev N, Martin AS, Hilenski L, Xiong S, Ushio-Fukai M, Alexander RW. *Central role of EEA1 in organization of Angiotensin II signaling leading to Akt activation in early endosomes*. American Heart Association Scientific Meeting, Orlando, USA 2009, Circulation 2009, Supp.
8. Nazarewicz RR; Patrushev NA; Hilenski L; Ushio-Fukai M; Alexander RW. *Novel Role of Early Endosome Antigen 1 in Reactive Oxygen Species- dependent AT1 Receptor-mediated Signaling Linked to Hypertrophy in Vascular Smooth Muscle Cells*. American Heart Association Scientific Meeting, New Orleans, USA 2008, Circulation 2008;118(18):S313-S314.
9. Nazarewicz R., Ziolkowski W. *Effect of high fat diet on oxidative stress in human subjects*. 4 th International Conference, Lublin, Poland 2006.

**III. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta**

- a) **Uczestnictwo w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych i krajowych: brak**
- b) **Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych**
  1. **Nazarewicz RR, Dikalova A, Fessel JP, Itani H, McMaster W, Bikineyeva A, Harrison DG, Dikalov S. *Cytokine-angiotensin II Interplay in Cyclophilin D- mediated Vascular Oxidative Stress and Hypertension*. Hypertension 2014, High Blood Pressure, San Francisco, CA 2014.**

2. **Nazarewicz RR**, Dikalova A, Fessel JP, Itani H, McMaster W, Harrison DG, Dikalov S. *Sirt3 Impairment and SOD2 Hyperacetylation Drive Vascular Oxidative Stress and Hypertension*. Hypertension 2014, High Blood Pressure, San Francisco, CA 2014,
3. **Nazarewicz RR**, Saleh MA, Wu J, Dikalov S, Harrison DG. *Mitochondrial hydrogen peroxide in T cell activation*. Hypertension 2014, High Blood Pressure, San Francisco, CA 2014,
4. **Nazarewicz R**. *Uric acid and oxidative stress in young sportsmen*. International Conference Physiological conditions of diet application. Warsaw, Poland 2004, (monograph 354-359).
5. **Nazarewicz R.**, Babicz-Zielińska E. *Body composition related to physical activity and protein intake*. 9 th European Nutrition Conference, Rome, Italy 2003.
6. **Nazarewicz R.**, Babicz-Zielińska E. *Protein intake and oxidative stress among youth of different physical activity*. 9 th European Nutrition Conference, Rome Italy 2003.
7. Ghafourifar P, **Nazarewicz R**, Zenebe WJ, Chen Z, Parihar MS, Parihar A. *Heart mitochondria nitric oxide synthase*. Mitochondrial Medicine Meeting, San Diego, USA 2007, Mitochondrion 2007;7(6): 404.
8. Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, **Nazarewicz RR**, Lewis W, Harrison DG Dikalov SI *Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension*. 16th Annual Meeting of Society for Free Radical Biology and Medicine, USA 2009, Free Rad. Biol Med 2009, 46, Supp.1.
9. Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, **Nazarewicz RR**, Lewis W, Harrison DG and Dikalov SI. *Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension*. American Heart Association Scientific Meeting, Orlando, USA 2009, Circulation 2009.



10. Dikalov S, Dikalova A, **Nazarewicz R**, Bikineyeva A, Mayorov V, Hilenski L, Lassègue B, Harrison D, Griendling K. *Role of Nox2-induced Reverse Electron Transfer in Production of Mitochondrial Reactive Oxygen Species, Endothelial Dysfunction and Hypertension*. SFRBM Annual Meeting, Orlando 2010, Free Rad Biol Med 2010, 27.

**c) Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych:** brak

**d) Otrzymane nagrody i wyróżnienia inne niż wymienione w pkt II j**

2006 Nagroda Rektora Akademii Morskiej w Gdyni za osiągnięcia naukowe

2005 Nagroda Rektora Akademii Morskiej w Gdyni dla młodych naukowców

2002 Nagroda Rektora Akademii Morskiej w Gdyni za obronę doktoratu

**e) Udział w konsorcjach i sieciach badawczych:** brak

**f) Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych oraz we współpracy z przedsiębiorcami innymi niż wymienione w pkt. II i :** brak

**g) Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism:** brak

**h) Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych**

Od 2007 American Heart Association

Od 2008 American Physiological Society

**i) Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki**

W ramach moich zadań dydaktycznych prowadziłem i prowadzę zajęcia w formie wykładów i ćwiczeń z następujących przedmiotów: Analiza i interpretacja artykułów naukowych, Dieta w wybranych jednostkach chorobowych, Żywnienie w rozwoju człowieka, Biochemia, (w AWFIS w Gdańsku i Akademii Morskiej w Gdyni) zarówno na studiach stacjonarnych, niestacjonarnych jak i podyplomowych, z których duża ilość oparta została na programie autorskim.

W ramach działań popularyzatorskich uczestniczyłem w szkoleniu trenerów w zakresie żywienia i biochemii oraz w konferencjach poświęconych roli aktywności fizycznej w profilaktyce zdrowotnej. Prowadziłem również wykłady popularyzujące zdrowe żywienie oraz organizowałem konferencje studenckich kół naukowych.

**j) Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji**

**Ilość magistrantów i licencjatów**

22

**k) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego.**

Brak

**l) Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich**

2007-2010 Emory University, School of Medicine, Division of Cardiology; Atlanta, GA

2006-2007 Ohio State University, Institute of Mitochondrial Biology, Davis Heart & Lung Research Institute; Columbus, OH

**m) Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie:** ekspertyza stanu odżywiania i diety zawodników Nike Trail Team

**n) Udział w zespołach eksperckich i konkursowych:** Vanderbilt University, VICTOR Advisory Mitochondrial Group

**o) Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych:** British Research Council Research projects

**p) Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:**

Circulation Research – 3 recenzje

Antioxidants and Redox Signaling- 22 recenzje

The International Journal of Biochemistry & Cell Biology- 3 recenzje

**r) Inne osiągnięcia, nie wymienione w pkt IIIa-IIIp:** brak

