

Prof. dr hab. Krzysztof Bobrowski
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
Dorodna 16, 03-195 Warszawa



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. PAWŁA WITYKA
„Sensybilizowane uszkodzenia fotochemiczne i radiacyjne w oligonukleotydach
oraz kompleksach białko-DNA”

Radioterapia i fototerapia dynamiczna są poza klasyczną chemioterapią najczęściej stosowanymi metodami leczenia chorób nowotworowych. Ich podstawowym celem jest zniszczenie materiału genetycznego komórki nowotworowej, a konkretnie genomowego DNA. Od wielu lat prowadzone były w grupach badawczych na całym świecie badania mające na celu wyjaśnienie inicjowanych zarówno fotochemicznie i radiacyjnie procesów, które prowadzą do uszkodzeń DNA, początkowo poprzez badania prostych układów jak nukleinowe zasady azotowe, nukleozydy, nukleotydy, a kończąc na wybranych fragmentach DNA. Ze względu na fakt, że w szczególności wysokoenergetyczne promieniowanie ma niszczący wpływ na zdrowe komórki powodując zwiększenie szybkości ich mutacji, i to często w skali większej niż na komórki nowotworowe istniała konieczność rozwiązania tej niepożądanego sytuacji patowej. Jednym z takich rozwiązań mogą okazać się do pewnego stopnia związki o właściwościach sensybilizujących, które wprowadzone do DNA komórki nowotworowej mogą lokalnie zwiększyć jej uszkodzenia w wyniku dostarczonego promieniowania co pozwoliłoby na obniżenie dawki terapeutycznej i tym samym obniżyć uboczne efekty radioterapii. Ważną grupą związków o własnościach sensybilizujących i które mogą być wprowadzone do DNA *in vivo* są bromo- i jodopochodne nukleozydów pirymidynowych i purynowych. Bardzo istotny i trudny do przecenienia wkład w poznanie mechanizmów procesów inicjowanych światłem UV jak i promieniowaniem X/γ w/w związków wnosi od przeszło 15 lat grupa badawcza kierowana przez prof. Janusza Raka. Grupa ta wykorzystuje w tym celu różnorodne i jednocześnie coraz bardziej precyzyjne i wiarygodne poprzez ich selektywność metody detekcji produktów uszkodzeń DNA i równolegle coraz bardziej wyrafinowane metody obliczeniowe.

W te trudne do zaprzeczenia fakty bardzo dobrze wpisuje się rozprawa doktorska mgr. Pawła Wityka, która została wykonana w Pracowni Sensybilizatorów Biologicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem prof. dr. hab. Janusza Raka oraz przy istotnej pomocy dr. hab. inż. Jacka Czuba pełniącego rolę promotora pomocniczego. Zakres rozprawy wiąże się ściśle z tematyką badań, które były przedmiotem wcześniejszych i obecnych zainteresowań promotora i promotora pomocniczego rozprawy jak również innych członków grupy badawczej w której doktorant przygotowywał swoją rozprawę. Rozprawa mgr. Pawła Wityka stanowi udaną kontynuację w/w tematyki i dostarcza nowych i ważnych informacji związanych z mechanizmami uszkodzeń kompleksów dwuniciowego DNA znakowanego sensybilizatorami typu BrdX z białkami.

Tematyka rozprawy jest aktualna, nowoczesna i o dużym aspekcie poznawczym, co znalazło już potwierdzenie w opublikowaniu części jej wyników w 2 czasopismach z bazy *Journal Citation Reports* o wysokich współczynnikach oddziaływania. I tak,

fragment rozprawy dotyczący mechanizmu uszkodzeń DNA indukowanych rodnikiem adenozylowym został w całości zawarty w artykule opublikowanym w czasopiśmie *J. Chem. Theory Comp.* (IF = 5.245), gdzie doktorant był pierwszym autorem (przy współdziale 5 współautorów). Z kolei w artykule opublikowanym w czasopiśmie *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (IF = 3.255) znalazły się fragmenty rozprawy związane z wpływem obecności trietyloaminy na proces fotoindukowanego transferu elektronu w sekwencji 5'-GAABrdU-3", w którym doktorant był również pierwszym autorem (przy współdziale 2 autorów).

Zanim przejdę do merytorycznej oceny rozprawy muszę w tym miejscu podkreślić dużą niestaranność z jaką została przygotowana zarówno pod względem językowym jak i szaty graficznej. Od prawie 25 lat jestem dość częstym recenzentem rozpraw doktorskich i po raz pierwszy spotkałem się z tak bezkrytycznym i do pewnego stopnia lekceważącym podejściem doktoranta do przygotowanej przez siebie rozprawy. Nie jestem oczywiście zwolennikiem rozpraw w których forma ma przerastać treść, ale zarówno język rozprawy jak i jej szata edytorska powinny jednak reprezentować pewien przyzwoity poziom. Pracę czyta się z dużą trudnością, nie tylko z powodów bardzo licznych błędów (niefortunne sformułowania i terminy, wiele wyrażen żargonowych, liczne skróty myślowe oraz wiele błędów stylistycznych i składniowych), ale również z powodu dość chaotycznej prezentacji wyników i pobieżnej dyskusji oraz wielu rysunków wraz z podpisami bardzo często mało czytelnymi zarówno od strony wizualnej jak i informującej. Zwykle w swoich wcześniejszych recenzjach wymieniałem jedynie kilka tego typu przykładów niedociągnięć edytorskich, które są oczywiście nieuniknione, ale których ilość była zwykle na akceptowalnym poziomie. W tym wypadku wymieniłem je jednak wszystkie, aby doktorant zdał sobie sprawę z rozmiarów swojego lekceważącego podejścia do dzieła, którego jest przecież autorem i które podpisał swoim imieniem i nazwiskiem.

Układ rozprawy jest typowy dla tego typu opracowań i składa się z 6 zasadniczych rozdziałów przedstawionych na 134 stronach, zawierających 55 rysunków, 7 tabel i 153 odnośników literaturowych oraz dodatkowego materiału uzupełniającego zawierającego wykaz tabel, wykaz rysunków oraz listę skrótów (zresztą niepełną) używanych w rozprawie.

W realizacji postawionych celów pracy mgr Paweł Wityk wykorzystał różnorodne techniki pomiarowe: wysokosprawną chromatografię cieczową, wysokosprawną chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas, chromatografię żelową, dichroizm kołowy, skaningową kalorymetrię różnicową oraz przeprowadził obliczenia metodami dynamiki i metadynamiki molekularnej (m. in. wybranych struktur dsDNA oraz ich kompleksów z peptydami). Świadczy to o wszechstronnym i dobrym przygotowaniu doktoranta zarówno od strony eksperymentalnej jak i teoretycznej.

Rozprawę otwiera rozdział „**Wstęp**”, w którym mgr Paweł Wityk wprowadza czytelnika w zagadnienia związane pośrednio i bezpośrednio z tematyką Jego rozprawy: a mianowicie z chorobami nowotworowymi, budową i lokalizacją DNA, radio- i fotosensybilizatorami DNA, radioterapią i fototerapią dynamiczną, radiolizą wody, fotoindukowanym transferem elektronu, oddziaływaniami białko/DNA oraz mechanizmami prowadzącymi do uszkodzeń DNA. W tym miejscu miałbym wiele komentarzy i uwag, ale muszę się ograniczyć do tych najważniejszych: (i) sam tytuł rozdziału, który liczy blisko 40 stron, nie jest najszcześniejszy, jest to właściwie rozdział mający charakter przeglądu literaturowego zagadnień związanych z rozprawą, (ii) poświęcenie prawie ¼

rozdziału (podrozdziały 1.1 do 1.4) na informacje, które nie są bezpośrednio związane z przedmiotem rozprawy, wydaje się niepotrzebne. Korzystniejsze byłoby bardziej wnikliwe i dokładniejsze omówienie literatury związanej bezpośrednio z tematyką rozprawy, (iii) szkoda, że w rozdziale 1.9 przy omawianiu promieniowania wysokoenergetycznego doktorant ogranicza się jedynie do porównywania długości fal, a nie podaje energii kwantów promieniowania X i γ , których energie są o kilka rzędów wyższe od energii jonizacji badanych związków jak i od energii promieniowania UV stosowanego w badaniach, (iv) rozdziały 1.10 i 1.11 zawierają liczne błędy i niedociągnięcia: „reaktywne formy tlenu lub rodniki hydroksylowe” (rodniki hydroksylowe są uważane jako RFT), „radiochemicznych uszkodzeń DNA” (powinno być radiacyjnych), „mamy do czynienia z pierwszo- i drugorzędowymi produktami” (powinno być z pierwotnymi i wtórnymi produktami), radioliza wody jest opisana w sposób bardzo nieudolny, chaotyczny i często błędny, odnośnik literaturowy [79] podany w tym miejscu nie jest odpowiedni, dotyczy on szczególnego przypadku, a mianowicie radiolizie wody na powierzchni tlenków metali, reakcje na str. 38 są napisane nieprawidłowo (nawiasem mówiąc nie rozumiem dlaczego w całej rozprawie doktorant nie numeruje reakcji ani wzorów (vide str. 37, 38, 78, 80, 85, 86 i 87), odnośnik literaturowy [83] jest w tym miejscu również nieodpowiedni, w literaturze przedmiotu dostępnych jest wiele bardzo dobrych artykułów przeglądowych i monografii o radiolizie wody, których doktorant w ogóle nie cytuje, a szkoda, bo zaznajamiając się z nimi na pewno nie użyłby wielu niefortunnych wyrażen terminologicznych jak np. „ścieżki promieniowania” i nie popełnił w/w błędów merytorycznych. Pominięcie w spisie literatury rozprawy, m.in. klasycznej i bardzo wartościowej monografii Clemensa von Sonntaga „Free Radical-Induced DNA Damage and Its Repair: A Chemical Perspective”, ale też wielu innych (vide infra), nie świadczy dobrze o rozeznaniu literaturowym doktoranta. Z kolei odwoływanie się w tym konkretnym wypadku do *Wikipedii* jako źródła naukowego uważam, że w rozprawie doktorskiej nie powinno mieć miejsca (vide Rys.1.7 gdzie przedstawiony jest schematycznie proces radiolizy wody, w większości nieścisły, pogmatwany i dezorientujący), (v) doktorant często opisuje słowami reakcje chemiczne, zamiast przedstawić je w postaci odpowiedniego równania z komentarzem (np. w podrozdziale 1.13), (vi) używa niezręcznych sformułowań typu „bodziec termodynamiczny”, (vii) przedstawia w tekście liczne informacje, do których nie podaje odpowiednich odnośników literaturowych (np. str. 45 tekst w drugim akapicie, str. 52 „Badania grupy Margalita,^{ref?}...”, (viii) tekst w ostatnim akapicie na str. 48 powinien znaleźć się w rozdziale Cele Pracy, (ix) zupełnie jest dla mnie niezrozumiały fakt, że w podrozdziale 1.18 „Możliwe mechanizmy prowadzące do uszkodzenia nici DNA” znalazł się tekst i odwołanie do publikacji doktoranta w *J. Chem. Theory Comput.* 2017, **13**, 6415 oraz Rysunki 1.10 - 1.16, które znalazły się w Supporting Information tej publikacji. Zawarty w niej materiał to przecież jedno z osiągnięć tej rozprawy i powinien znaleźć się w rozdziale Wyniki. Szkoda, że zamiast tego doktorant nie omówił dotychczasowych prób wyjaśnienia mechanizmów prowadzących do specyficznych uszkodzeń DNA (jak sam pisze na początku drugiego akapitu na str. 53), który pozwoliłby czytelnikowi wyrobić sobie opinię jaki jest „*state of the art*” związany z tymi zagadnieniami i w związku z tym o celowości podjętych przez doktoranta badań jak również sformułowanych przez niego celów rozprawy i zaplanowanych i wykonanych w celu ich realizacji eksperymentów.

Kolejny rozdział „Cele pracy” zawiera cele jakie postawił przed sobą doktorant wraz z motywacją ich podjęcia. Nie są one do końca precyzyjnie i klarownie

sformułowane, ale można je sprowadzić do czterech podstawowych zagadnień. W tekście znalazłem kilka niezręcznych sformułowań „w **minimalnych** układach modelowych”, „wykonanie studium przypadku (???) (badań fotochemicznych i radiacyjnych) dla układu modelującego oddziaływanie w kompleksie znakowane DNA-białko GCN4”. Odnosząc się do 2 celu pracy, który dotyczył weryfikacji tzw. „kontratermodynamicznego” mechanizmu fotochemicznych uszkodzeń w znakowanych BrdU oligonukleotydach, szkoda, że doktorant w poprzednim rozdziale nie wyjaśnił na czym ten mechanizm polega.

Rozdział **Metodologia** rozpoczyna część eksperymentalną rozprawy i zawiera między innymi opis wielu metod i technik badawczych, zarówno eksperymentalnych jak i obliczeniowych które mgr inż. Paweł Wityk wykorzystał w swoich badaniach, i które wykonywał tylko w swoim macierzystym ośrodku. W rozdziale znajduje się duża ilość skrótów (trzyliterowe kody aminokwasów); szkoda, że doktorant nie umieścił ich w liście skrótów, skoro wprowadzał wyjaśnienia skrótów typu UV czy PJ. Na str. 67 doktorant pisze „Dawka promieniowania wynosiła 700 Gy i była **generowana** z szybkością 6.7 Gy/min”; jest to zdanie niepoprawne bo 700 Gy to dawka **zaabsorbowana** przez układ (ilość energii (700 J) na jednostkę masy (1 kg)) z szybkością 6.7 Gy/min, i następnie „Dawka promieniowania była oszacowana za pomocą dozymetru Maestro11 (Standa, Litwa). W fotochemii częściej stosowanym terminem jest **aktynometr** nie dozymetr; poza tym sama informacja że jest to dozymetr Maestro11 (Standa, Litwa) nie wnosi informacji o podstawie jego działania. W podpisie pod rysunkiem 3.2 (str. 75) doktorant po raz pierwszy w rozprawie wprowadza błędne w tym kontekście terminy „reakcji pierwszo- jak i drugorzędowych”, a przecież chodzi tu o reakcje pierwotne i wtórne; tej błędnej terminologii używa jeszcze wielokrotnie na str. 78, 79, 80, 125 i 127. Nie jest dla mnie jasne dlaczego podrozdziały 3.2.4 i 3.2.5 znalazły się w tym miejscu, a nie w następnym rozdziale prezentującym wyniki. W ostatnim akapicie podrozdziału 3.2.5 na str. 87 doktorant prezentuje dwa wzory na stałe szybkości reakcji bez podania odnośników literaturowych z których pochodzą.

Kolejny rozdział **Wyniki** stanowi najważniejszą część rozprawy, w którym są przedstawione uzyskane przez doktoranta wyniki doświadczalne i wyniki uzyskane na drodze obliczeniowej wraz z ich dyskusją. Rozdział ten powinien w zasadzie nosić tytuł Wyniki i Dyskusja Wyników skoro doktorant zdecydował się nie poświęcać oddzielnego rozdziału dyskusji. Odnosząc się do tego fragmentu pracy chcę jeszcze raz podkreślić, że mgr Paweł Wityk zgromadził bogaty, interesujący i wartościowy od strony poznawczej materiał, co znalazło potwierdzenie w opublikowaniu części z nich w czasopiśmie o dużej randze międzynarodowej. Na str. 117 doktorant pisze „*Natomiast w przypadku uszkodzeń niespecyficznych, mamy do czynienia z funkcją ochronną peptydu, która eliminuje cząsteczki wody ze sfery hydratacyjnej DNA*”. Czy doktorant wziął pod uwagę inne wytłumaczenie, że peptyd jest zmiataczem zarówno rodników $\cdot\text{OH}$ jak i e^-_{aq} i na tym polega jego rola ochronna. Sugeruję doktorantowi zapoznanie się z całą serią prac z grupy prof. Spothem-Maurizot, która jest autorką modelu RADACK (contraction of RADiation-induced attACK), który z powodzeniem wyjaśnia wyznaczone eksperymentalnie względne prawdopodobieństwo uszkodzeń radiolitycznych spowodowanych atakiem $\cdot\text{OH}$ we wszystkich formach DNA (m.in. również w kompleksach DNA-białko). W przypadku kiedy znana jest struktura obiektu napromienianego model ten potrafi określić miejsce i rozmiar uszkodzenia.

Podczas czytania tego rozdziału rozprawy nasunęły mi się kolejne krytyczne uwagi i komentarze: (i) praca Stanojevic & Verdin (str. 89) nie jest pozycją [20] w spisie literatury i co więcej nie jest w nim nawet wymieniona (ii) nie jest zachowana zasada, że numeracja rysunków powinna odpowiadać kolejności pierwszego odwoływania się do nich w tekście (str. 97, 111), (iii) błędna jest numeracja rysunku na str. 91 (iv) równania definiujące $\Delta H(T)$ i $\Delta S(T)$ powinny być wydzielone, a nie być wtrąceniem w zdaniu (str. 107) (v) częste żargonowe i niezręczne sformułowania: „*minimalistyczne układy zasad azotowych..*” (str. 53), „*... (atom cukru)...*” (str. 78), „**zdekonwolowany wkład cieplny w formie gaussiana**” (str. 107), „*...otrzymane energie topnienia DNA znajdują się w literaturowym zakresie topnienia helis...*” str. 108, „*ubytek nici w stosunku do kontroli...*” (str. 110), „*chromatogramy przedstawiające kontrolę...*” (Rys. 4.21), „*...materiał został zawieszony ponownie w wodzie* (str. 119) „*bodźce termodynamiczne*” „*bodziec oscyluje*” (str. 126), „*...różnych sugerowanych przez literaturę czasów rodnika...* (str. 127), „*...otrzymujemy słupki odpowiedzialne za produkty β -eliminacji*” (str. 128), „*bodziec termodynamiczny*” (str. 132, 133), „*...w obrębie analizy bodźca termodynamicznego*” (str. 132) (vi) informacja „*wszystkich*” w podpisie Rys. 4.22 jest niespójna z informacją w tekście „*wyłącznie najintensywniejsze*” na str. 112, (vii) podpisy pod rysunkami 4.27, 4.28, 4.29, 4.30, 4.31, 4.32 są niepełne, co potwierdza konfrontacja z odpowiednimi rysunkami w publikacji, której doktorant jest współautorem, (viii) podawanie błędnych odnośników do tabel i rysunków: „*Na Rys. 3.27 przedstawiono profile energii swobodnej dla poszczególnych reakcji (wartości liczbowe wraz z odchyleniami przedstawiono natomiast w Tabeli 3.4)*” (str. 125); podane odnośniki są błędne. Rysunku 3.27 i Tabeli 3.4 nie ma w ogóle w rozprawie, chodzi prawdopodobnie o Rys. 4.31 i Tabelę 4.4; „*porównanie danych eksperymentalnych z danymi teoretycznymi przedstawionymi w Tabeli 3.6 wskazuje...*” (str. 129); podany odnośnik jest błędny, nie ma takiej tabeli w rozprawie, odwołanie na str. 133 do Tabeli 3.5 jest błędne, nie ma takiej tabeli, chodzi prawdopodobnie o Tabelę 4.5, (ix) na str. 129 doktorant odwołuje się do analizy procesu fotoindukowanego transferu elektronu i w płynny sposób bez żadnego wyjaśnienia stwierdza, że „*metodologie walidowano wykonując modelowanie procesu transferu dziury elektronowej*”. Nawiasem mówiąc podane wartości stałych szybkości na str. 129 są nieprawidłowe, wartości wykładników powinny być dodatnie, a nie ujemne. Według mnie w rozdziale Wstęp doktorant powinien poświęcić chociaż krótki podrozdział omawiający prace eksperymentalne i teoretyczne traktujące o procesach przenoszenia elektronu i dziury w DNA, w rozprawie brak jest odnośników do bardzo ważnych prac z tej tematyki z grup Wasielewskiego, Barton (za wyjątkiem pracy [106]), Giesego, Berlina i Siebbelesa; sugeruję doktorantowi zaznajomienie się też z pracą w *WIREs Comput. Mol. Sci.* 2012, 2: 780–794 wraz z podanymi tam odnośnikami literaturowymi.

Ostatnie dwa rozdziały rozprawy to **Podsumowanie i Literatura**. Pierwszy z nich spełniłby lepszą rolę, gdyby doktorant przedstawił w nim w sposób zwięzły i klarowny wnioski jakie wynikają z przeprowadzonych przez niego badań i tak ten rozdział również zatytułował. Niezależnie od tego, rozprawa doktorska powinna posiadać streszczenie (ale znacznie krótsze) zarówno w języku polskim jak i angielskim. Uwagi związane z drugim rozdziałem i jego ocenę przedstawiłem w kilku miejscach mojej recenzji.

Za szczególnie ważne wyniki uzyskane przez doktoranta w trakcie realizacji rozprawy uważam:

- wykazanie w oparciu o obliczenia teoretyczne i wyniki eksperymentalne, że kompleksy dwuniciowego DNA wyznakowanego foto- i radiosensybilizującymi nukleozydami typu BrdX (X = G, A, C i U) z kowalencyjnie związanymi peptydami mogą z dobrym przybliżeniem modelować uszkodzenia w sensybilizowanym DNA w jego naturalnym środowisku, którym jest komórka. Poza dużym walorem poznawczym, może to mieć istotne znaczenie w projektowaniu nowych sensybilizatorów, które w przyszłości mogą lepiej służyć w radioterapii czy fototerapii nowotworowej,

- opracowanie modelu kinetycznego, w oparciu o klasyczną dynamikę molekularną i QM/MM metadynamikę, który w poprawny sposób przewiduje prawdopodobne ścieżki reakcji z udziałem rodnika purynowego prowadzące do uszkodzeń DNA w bardziej realistycznym modelu uwzględniającym m. in. ograniczenia przestrzenne w DNA. Na obecną chwilę, jest to chyba najbardziej kompletny opis reaktywności tego rodnika w dwuniciowym DNA, dobrze przewidującym produkty wtórnych reakcji, przedtem obserwowanych w warunkach eksperymentalnych.

Tak jak wspomniałem na początku mojej recenzji poniżej wymienię wszystkie, (które znalazłem jako recenzent) uchybienia edytorskie w tekście (jest ich ponad 100):

błędy typu „typo”:

str. vi: radiosybilizujące → radiosensybilizujące

str. viii: Archeniusa → Arrheniusa

str. viii: kasakdy → kaskady

str. viii: Rysunek 4.13 → Rysunku 4.13 i Rysunek 4.14 → Rysunku 4.14

str. ix: *A*-helisa → α -helisa, *B*-kartka → β -kartka i *A*-helisa/ *B*-kartka → α -helisa/ β -kartka

str. ix: *B*-eliminacji → β -eliminacji

str. ix: nuklozydu → nukleozydu

str. ix: *B*-eliminacji → β -eliminacji

str. xii: energiswobodnej → energii swobodnej

str. xii: schemtyczne → schematyczne

str. xii: prąd jonowego → prądu jonowego

str. xiv: peknięcia → pęknięcia

str. xiv: dwunicowe → dwuniciowe 2x

str. xiv: pęknięcia → pęknięcia

str. 16: Podowują → Powodują

str. 19: ulegają → ulegają

str. 21: częściorganizmu → części organizmu

str. 22: wszystichnarządów → wszystkich narządów

str. 23: charaktreyzuje → charakteryzuje

str. 23: tyempei → tempie

str. 24:na zbyt mała ilość naczyń.... →na zbyt małą ilość naczyń....

str. 24: nowotowrów → nowotworów

str. 24: na Rysunek 1.3 → na Rysunku 1.3

str. 24: porowadzi → prowadzi

str. 26: praz → oraz

str. 28: bromopochodne → bromopochodne

str. 29: w natywnego DNA → w natywnym DNA
str. 31: procesów → procesów
str. 34: emitowanie → emitowane
str. 35: powstających → powstających
str. 38: inne → inne
str. 38: tertbutanol → *tert*-butanol
str. 40: ninjjeszej → niniejszej
str. 40: zostamnie → zostanie
str. 43: stowane → stosowane
str. 43: powstających → powstających
str. 45: ropoznanie → rozpoznanie
str. 47: *zink* → *zinc*
str. 47: koorydonowany → koordynowany
str. 48: odpowieda → odpowiada
str. 50: kwantowochemicznych → kwantowo-chemicznych
str. 53: rozawzań → rozważań
str. 56: nuklozydu → nukleozydu
str. 61: Triethylamina → trietyloamina
str. 61: została zakupiona → zostały zakupione
str. 62: wymieszanie → wymieszane
str. 63: reverse-phase C18 column → kolumna C 18 z odwróconą fazą
str. 63: DHPLC → dHPLC
str. 64: bufor K/PO4 ???
str. 66: przepłukana → przepłukane
str. 69: orpogramowanie → oprogramowanie
str. 70: detector → detektor
str. 71: napeicie → napięcie
str. 72: a pomocą → za pomocą
str. 73: zzasad → zasad
str. 74: wykorzystnaiem → wykorzystaniem
str. 77: przerowadzenie → przeprowadzenie
str. 79: na Rysunek 4.31 → na Rysunku 4.31
str. 80: Archeniusa → Arrheniusa
str. 80: kasakdy → kaskady
str. 82: BEL → BET (wielokrotnie na Rys. 3.3)
str. 84: zaporponowaną → zaproponowaną
str. 84: przedstawiono to na Rysunek 3.4 → przedstawiono na Rysunku 3.4
str. 85: reakcji → reakcji
str. 85: zgodnie z Rysunek 3.5 → zgodnie z Rysunkiem 3.5
str. 86: wyznaczenia → wyznaczenia
str. 87: couplingi → sprzężenia
str. 88: biłaka → białka
str. 88: oddziływaniu → oddziaływaniu
str. 91: brom pochodnymi → bromopochodnymi

str. 94: tmeperaturze → temperaturze
 str. 97: co przedstawiono w Tabela 4.1 → co przedstawiono w Tabeli 4.1
 str. 97: przedstawiono na Rysunek 4.8 → przedstawiono na Rysunku 4.8
 str. 98: przedstawionych na Rysunek 4.3 → przedstawionych na Rysunku 4.3
 str. 101: zilustrowanych na Rysunek 4.9 → zilustrowanych na Rysunku 4.9
 str. 101: pokazane na Rysunek 4.10 → pokazane na Rysunku 4.10
 str. 102: odpowiedziečna → odpowiedzieć na
 str. 105: tmperaturach → temperaturach
 str. 108: Rysunek 4.13 oraz Rysunek 4.14 → Rysunku 4.13 oraz Rysunku 4.14
 str. 109: fragment → fragmentu
 str. 109: energi → energii
 str. 110: Radiosybilizujące → Radiosensybilizujące
 str. 110: Napromienieniony → Napromieniony
 str. 110: zawartych na Rysunek 4.20 oraz Rysunek 4.21 i przedstawiono w Tabela 4.3 → zawartych na Rysunku 4.20 oraz Rysunku 4.21 i przedstawiono w Tabeli 4.3
 str. 110: techniki → techniki
 str. 110: z reszta aminokwasową → z resztą aminokwasową
 str. 111: eluuja → eluują
 str. 112: Na Rysunek 4.22 zaznaczono → Na Rysunku 4.22 zaznaczono
 str. 115: prąd jonowego → prądu jonowego
 str. 117: isąsiedniego → i sąsiedniego
 str. 117: wzrost liczby rodników zlokalizowanego → wzrost liczby rodników zlokalizowanych
 str. 118: przedstawiono na Rysunek 4.27 → przedstawiono na Rysunku 4.27
 str. 118: miesjca → miejsca
 str. 121: W Tabela 4.3 przedstawiono → W Tabeli 4.3 przedstawiono
 str. 124: an drodze → na drodze
 str. 124: od Rysunek 1.10 do Rysunek 1.16 → od Rysunku 1.10 do Rysunku 1.16
 str. 125: odleńgości → odległości
 str. 125: przedsatwiono → przedstawiono
 str. 125: obserwujemy dla dla H3' → obserwujemy dla H3'
 str. 126: rekacja → reakcja
 str. 127: oderwanaia → oderwania
 str. 127: wodoruprzy → wodoru przy
 str. 127: bareir → barier
 str. 127: pozwoliło → pozwoliło
 str. 127: to determinującą role → to determinującą rolę
 str. 130: przedstawiono na Rysunek 4.33 → przedstawiono na Rysunku 4.33
 str. 130: zilustrowane na Rysunek 4.34 → zilustrowane na Rysunku 4.34
 str. 132: mastka → mostka
 str. 132: przedstawiono je w Tabela 4.5 → przedstawiono je w Tabeli 4.5
 str. 132: bardziej → bardziej
 str. 136: analizę → analizie

str. 136: ukłádów → układów

błędy związane z prezentacją odnośników literaturowych

Z kolejnych niedociągnięć świadczących o całkowicie bezkrytycznym podejściu doktoranta do swojej rozprawy jest sposób prezentacji odnośników literaturowych, na potwierdzenie czego niech posłużą następujące przykłady (i) po raz pierwszy spotykam się z rozprawą w której informacja o czasie i miejscu ich opublikowania ogranicza się jedynie do podania tytułu czasopisma i roku, całkowicie pomijając numery odpowiednich tomów i stron, nie mówiąc już o książkach czy monografiach, gdzie podawany jest jedynie rok i czasami wydawca (ii) w zasadzie trudno zorientować się jaką konwencję przyjął doktorant odnośnie autorów, w większości z nich podawał w odnośniku jedynie nazwisko pierwszego autora, ale kilkakrotnie wymienia prawdopodobnie wszystkich autorów (odnośniki: 15, 29, 45, 46, 47, 67, 70, 72, 106), (iii) wielokrotnie odnośniki literaturowe są zdublowane (odnośniki) 13 i 14; 44 i 151, 98 i 100, 104 i 107, 105 i 108, 115 i 116, 119 i 145, 122 i 126, 123 i 127, 140 i 141, co więcej zdublowane odnośniki 98 i 100, występują po raz trzeci jako odnośnik 59, tylko z innym nazwiskiem pierwszego autora. Po konfrontacji z oryginalną publikacją stwierdzam, że nazwisko podane jako nazwisko pierwszego autora w odnośnikach 98 i 100 jest podane nieprawidłowo. Pozwala to wątpić, czy w pozostałych odnośnikach literaturowych doktorant podał poprawnie nazwiska pierwszych autorów. Kolejne niedociągnięcia, to (i) brak konsekwencji w podawaniu informacji o autorach (raz podawane są inicjały ich imion, innym razem pełne imiona), (ii) tytuły czasopism podawane i prezentowane są również w sposób niekonsekwentny (np. JACS, J. Am. Chem. Soc., **J. Am. Chem. Soc.**), raz przedstawione kursywą, czasami normalną czcionką, (iii) odnośnik 50, tu cytuję, Chem. Phys. Lett. submitted 2014 (skąd czytelnik ma wiedzieć, czy i kiedy artykuł został opublikowany w tym czasopiśmie), (iv) w odnośniku 74, tytuł czasopisma jest nieczytelny, (v) co oznacza skrót (eLS) w odnośniku 101 i NAR (*Nucleic Acid Research?*) w odnośniku 149? (vi) odnośnik 143 jest zupełnie nieczytelny, (vii) tytuł czasopisma w odnośniku 83 jest błędny, powinien brzmieć *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. Wszystkie wyżej wymienione fakty powodują, że czytelnik ma dość ograniczone zaufanie co do poprawności przedstawionych przez doktoranta odnośników literaturowych.

Reasumując, rozprawa doktorska mgr. Pawła Wityka zawiera na pewno oryginalne i cenne wyniki (zarówno obliczeniowe jak i eksperymentalne), związane z badaniami kinetycznymi i mechanizmami zachodzącymi w dsDNA oraz w kompleksach dsDNA-białko modyfikowanych foto- i radiosensybilizującymi nukleozydami (BrdG, BrdA, BrdC i BrdU. Szkoda tylko, że doktorant mając do swojej dyspozycji bardzo wartościowy i ciekawy materiał eksperymentalny przedstawił go w sposób dość nieudolny i bezkrytyczny. Szczególnie jest to widoczne porównując tekst i materiał ilustrujący w dwóch oryginalnych publikacji doktoranta związanych bezpośrednio z rozprawą, z odpowiednimi fragmentami tekstu zawartego w samej rozprawie. Te fragmenty i tak brzmią lepiej od fragmentów rozprawy, które nie zostały jeszcze opublikowane. Mając to na względzie, doktorant powinien włożyć zdecydowanie większy wysiłek w jego przygotowanie, w porównaniu z tekstem, który właściwie wymagał jedynie poprawnego tłumaczenia i wybrania najważniejszych jego fragmentów. Wszystkie te fakty świadczą o niepełnej jeszcze dojrzałości naukowej doktoranta. W pracy naukowej ostrożność i

krytycyzm przy interpretacji wyników badań a w późniejszych etapach umiejętność jasnego i logicznego ich zaprezentowania i dyskusji, a na końcu wyciągania i zwięzłego formułowania wniosków to umiejętności, które mam nadzieję, że doktorant nabeździe w dalszych etapach rozwoju swojej kariery naukowej.

Moje liczne uwagi krytyczne nie podważają znaczenia przeprowadzonych przez doktoranta badań, i faktu, że zrealizował postawione przed sobą cele badawcze a które, co trzeba podkreślić na pewno nie należały do łatwych. Jestem przekonany, że doktorant uzyskał wartościowe wyniki, mając jednocześnie nadzieję, że przy tej okazji zdobył również wiedzę związaną z procesami rodnikowymi zachodzącymi w bardzo złożonych układach chemicznych o kluczowym znaczeniu biologicznym.

Powyższe stwierdzenie upoważnia mnie do sformułowania końcowej opinii, że **rozprawa doktorska mgr. Pawła Wityka spełnia wymagania przewidziane Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 (Dz. U. nr 65, poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami i wnoszę o jej przyjęcie przez Radę Wydziału oraz dopuszczenie mgr. Pawła Wityka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



(prof. dr hab. Krzysztof Bobrowski)

Warszawa, 12 czerwca 2018