

Dr hab. Krzysztof Murzyn  
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii  
Uniwersytet Jagielloński  
ul. Gronostajowa 7  
30 – 348 Kraków, Polska  
tel.: (12) 664 63 79  
email: [krzysztof.murzyn@uj.edu.pl](mailto:krzysztof.murzyn@uj.edu.pl)



Kraków, 18.07.2022

**Recenzja pracy doktorskiej  
mgr. inż. Mateusza Rzyckiego, pt.**

**Antimicrobial effect – decomposition of biological phenomena  
into physical approach – a theoretical model**

Rozprawa doktorska mgr. inż. Mateusza Rzyckiego dokumentuje wyniki badań kationowych związków powierzchniowo czynnych przeprowadzonych z wykorzystaniem metod modelowania komputerowego. W badaniach wyznaczane i analizowane są wybrane własności tzw. surfaktantów Gemini (w szczególności: oktenidyny i chlorheksydyny) oraz wpływ takich cząsteczek na własności strukturalne komputerowych modeli błon bakteryjnych o zróżnicowanym składzie lipidowym.

Praca doktorska została wykonana na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej, w Katedrze Fizyki Doświadczalnej pod kierunkiem dr hab. inż. Marty Gładysiewicz-Kudrawiec oraz dr hab. inż. Sebastiana Kraszewskiego. Rozprawa została napisana w języku angielskim, liczy łącznie 107 stron a jej integralną częścią jest cykl czterech artykułów naukowych Doktoranta opublikowanych w *Biophysical Journal* (IF 3.699, doi: 10.1016/j.bpj.2021.06.027), *International Journal of Molecular Sciences* (IF 6.208, doi: 10.3390/ijms222010939), *Lecture Notes in Computer Science* (IF 0.969, doi: 10.1007/978-3-030-77964-1\_42) oraz *Materials* (IF 3.748, doi: 10.3390/ma14216455).

Na dotychczasowy dorobek naukowy Doktoranta składają się wyłącznie ww. publikacje. Ich łączny współczynnik oddziaływania wynosi 14.644 a łączna liczba cytowań wynosi obecnie 6. Na wyróżnienie zasługuje fakt, że w każdej ze swoich dotychczasowych publikacji, Doktorant jest zarówno pierwszym autorem jak i autorem korespondującym.

Rozprawa składa się z dziewięciu numerowanych rozdziałów, spisu treści z nietypowo umiejscowionym (tj. jako podrozdział) streszczeniem w języku angielskim, spisu skrótów oraz wykazu literatury.

Pierwszy z numerowanych rozdziałów zatytułowany jest „*Introduction and description of dissertation*”. O ile wprowadzenie w zagadnienia podejmowane w rozprawie są przedstawione w zrozumiały i przemyślany sposób, o tyle po omówieniu zjawiska oporności antybiotykowej, struktury i własności surfaktantów, budowy otoczki bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich oraz obliczeniowych metod badawczych trudno w tej części rozprawy znaleźć opis układu rozprawy, a w szczególności wyjaśnienie związku między zawartością tego rozdziału a treścią dalszej części rozprawy. Przejściu od omawiania budowy błon bakteryjnych do przeglądu komputerowych metod modelowania nie towarzyszy uzasadnienie takiego doboru treści we wprowadzeniu. Uważny czytelnik rozprawy znajdzie taki związek dopiero w ostatnich dwóch akapitach podrozdziału o metodach numerycznych, kiedy to metody obliczania energii swobodnej powiązane są z oceną własności strukturalnych, mechanicznych i kinetycznych dwuwarstw lipidowych.

Rozdział drugi pt. „*Hypotheses*” zawiera wykaz czterech hipotez badawczych przedstawionych w kontekście głównego celu pracy, który został tu określony jako rozwój biofizycznych i numerycznych procedur oceny antybakteryjnej aktywności kationowych związków powierzchniowo czynnych (tzw. surfaktantów Gemini). Co ciekawe, w rozdziale 5 (streszczenie w języku polskim) ów główny cel jest sformułowany nieco inaczej, cyt. „[...] *opracowanie fizycznych i numerycznych modeli błon biologicznych, aby umożliwić ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej cząsteczek o strukturze Gemini*”. W opinii recenzenta, bardziej ogólne sformułowanie głównego celu badań w rozdziale 2 jest trafniejsze i pełniej odpowiada realizacji tego celu przez Doktoranta w cyklu publikacji ujętych w rozprawie. Hipotezy badawcze są z kolei sformułowane w większości w jasny i zrozumiały sposób. Pierwsza z hipotez głosi, że aktywność antybakteryjną wybranych związków amfifilowych można ocenić stosując podejście fizyczne oraz obliczeniowe. W opinii recenzenta, ta hipoteza jest albo zbyt zachowawcza albo potencjalnie myląca. Zachowawczość tej hipotezy jest widoczna chociażby w odwołaniu się Doktoranta we wcześniejszej części rozprawy do pracy przeglądowej Roga i wsp. (*Pharmaceuticals* (2021) 14:1062), w której omówiono liczne przykłady pomyślnego zastosowania metod obliczeniowych (a konkretnie: metody symulacji dynamiki molekularnej) do badania oddziaływań związków drobnocząsteczkowych z lipidami w błonie. Oczywiście można spekulować, że ta hipoteza ma na celu zwrócenie uwagi na związki między oddziaływaniami surfaktantów z lipidami w błonie a aktywnością antybakteryjną takich surfaktantów, jednak w takim przypadku, można byłoby oczekiwać, że wyniki obliczeniowe będą przedstawione w kontekście niezależnych i ustandaryzowanych wyników badań mikrobiologicznych, co ostatecznie jednak nie jest przedmiotem rozważań w żadnej z czterech publikacji zawartych w rozprawie. Druga z hipotez badawczych dotyczy molekularnych podstaw działania kationowych związków powierzchniowo czynnych. Doktorant zapowiada tu pogłębienie rozumienia źródeł aktywności antybakteryjnej surfaktantów. Ta hipoteza jest w mojej opinii dobrze postawiona i poprawnie wskazuje kierunek stosownych badań naukowych. Trzecia hipoteza poniekąd podąża za poprzednią i wskazuje na potrzebę badania związku między składem [lipidowym] i złożonością błon bakteryjnych a, tu chciałoby się dopowiedzieć: „oddziaływaniami między surfaktantami a lipidami” albo „antybakteryjną aktywnością wybranych surfaktantów”, jednak Doktorant położył tu nacisk na „dokładne odzwierciedlenie” bliżej nieokreślonych „zjawisk biologicznych i biofizycznych”. Wreszcie, czwarta hipoteza badawcza głosi, że „wykorzystując strukturalne i molekularne parametry surfaktantów Gemini, można ocenić ich zachowanie i aktywność na fizycznych modelach błon [lipidowych]”. Ta hipoteza w subiektywnej ocenie recenzenta wydaje się być najciekawsza a jedyną krytyczną uwagę można mieć tu do cokolwiek enigmatycznego określenia „parametry strukturalne i molekularne”.

Rozdział 3 obejmuje pięć stron, na których przedstawiono najważniejsze wyniki pracy doktorskiej. Doktorant otwiera ten rozdział akapitem z opisem układu publikacji w cyklu doktorskim oraz informacjami o infrastrukturze obliczeniowej, którą wykorzystano w badaniach. W następujących czterech podrozdziałach o tytułach odpowiednich publikacji, Doktorant opisuje kluczowe wyniki wraz ze wskazaniem ich związku z wcześniej postawionymi hipotezami badawczymi. Każdy z tych podrozdziałów kończy się opisem wkładu Doktoranta w przeprowadzenie określonych badań oraz Jego udziału w procesie powstawania odpowiedniej publikacji. Nie ulega wątpliwości, że udział Doktoranta w powstawaniu każdej z czterech publikacji cyklu jest dominujący podobnie jak w zakresie przeprowadzenia badań opisywanych w publikacjach 2, 3 i 4. Udział Doktoranta w badaniach opisanych w publikacji 1 oceniałbym jako znaczący. Ta pierwsza publikacja wyróżnia się na tle innych publikacji cyklu bardzo rozbudowaną metodycznie i złożoną interpretacyjnie częścią z wynikami. Aby ograniczyć powtórzenia w tekście recenzji, opis i ocenę treści zawartych w Rozdziale 3 przedstawiam łącznie z omówieniem zawartości publikacji wchodzących w skład cyklu doktorskiego i zawartych w Rozdziałach 6-9.

Wyniki uzyskane przez Doktoranta w czterech publikacjach cyklu podsumowane są w Rozdziale 4 pt. „Summary and conclusions”, w którym na dwóch stronach, Doktorant bardzo zwięźle podkreśla znaczenie swoich odkryć i przedstawia je w kontekście uprzednio postawionych hipotez badawczych. Doktorant jako najważniejsze z uzyskanych przez siebie wyników wymienia: (1) powiązanie antybakteryjnego działania oktenidyny i chlorheksydy z ich wpływem na mechaniczne własności błon lipidowych; (2) zebranie w uporządkowany sposób informacji dot. 250 surfaktantów Gemini oraz sparametryzowanie tych cząsteczek w polu siłowym CHARMM 22; (3) przeprowadzenie symulacji dynamiki molekularnej układów molekularnych dla reprezentatywnej grupy surfaktantów Gemini, w których cząsteczki tych surfaktantów związane są z błoną o składzie lipidowym odpowiadającym wewnętrznej błonie bakterii Gram-ujemnych; (4) zwrócenie uwagi na złożoność modeli komputerowych błon bakteryjnych i wpływ tej złożoności na badania oddziaływań związków błonowo czynnych z lipidami w błonie i oceny znaczenia tych oddziaływań na biologiczną aktywność tych związków; (5) zaproponowanie i implementacja nowej metody numerycznej symulacji procesu oddziaływania surfaktantów z błoną lipidową (program *Diptool*).

Ostatnie dwa rozdziały tej części rozprawy, to Rozdział 5 zawierający streszczenie w języku polskim (łącznie trzy strony) oraz wykaz literatury obejmujący 159 pozycji. Główną częścią rozprawy są przedruki czterech publikacji Doktoranta wchodzących w skład Jego cyklu doktorskiego.

Pierwsza z publikacji (Rozdział 6) nosi tytuł „*Unraveling the mechanism of octenidine and chlorhexidine on membranes: Does electrostatics matter?*”. W pracy opisane są wyniki uzyskane z wykorzystaniem zarówno metod obliczeniowych (tj. symulacja dynamiki molekularnej) oraz eksperymentalnych (tj. pomiary potencjału zeta w funkcji stężenia surfaktanta w celu określenia jego współczynnika podziału między rozpuszczalniki o różnej polarności, wykorzystanie sond fluorescencyjnych do określenia lokalizacji w błonie cząsteczek surfaktanta, badania zdolności surfaktanta do perforacji błony lipidowej poprzez badania kinetyki uwalniania karboksyfluoresceiny z liposomów, wyznaczenie mechanicznych parametrów błon lipidowych poddanych działaniu surfaktanta). Jednym z ciekawszych wyników jest na pewno scharakteryzowanie wpływu oktenidyny na własności błon zbudowanych wyłącznie z lipidów neutralnych (tu: fosfatydylocholiny) oraz błon zawierających zarówno lipidy neutralne jak i lipidy ujemnie naładowane (tu: fosfatydyloglicerol). W odróżnieniu od wcześniejszych doniesień, że u podstaw wiązania oktenidyny z błoną lipidową leżą głównie oddziaływania elektrostatyczne, Autorzy publikacji dowodzą, że kluczową rolę odgrywa w tym przypadku zmiana własności mechanicznych

błony (tj. sztywności zginania, ang. *bending rigidity*, parametr będący miarą elastyczności błony). Owa elastyczność w przypadku błon neutralnych przy niskich stężeniach oktenidyny rośnie by następnie maleć w miarę wzrostu stężenia surfaktanta, podczas gdy w przypadku błon zawierających fosfatydyloglicerol obserwowany jest w tej sytuacji monotoniczny spadek elastyczności błony. Autorzy wiążą obserwowaną zmianę we własnościach mechanicznych błony z antybakteryjną aktywnością oktenidyny, która może przejawiać się w zakłócaniu procesu tworzenia mikrodomen lipidowych i pośrednio wpływać na homeostazę białek błonowych w komórkach bakteryjnych. Na wyróżnienie w tej publikacji zasługuje również objaśniający i komplementarny charakter wyników uzyskanych metodami obliczeniowymi (symulacje dynamiki molekularnej) oraz eksperymentalnymi (w szczególności, w zakresie badania lokalizacji cząsteczek surfaktanta w błonie). Warto tu również podkreślić nowatorski charakter badania własności badanych surfaktantów przejawiającej się w destabilizowaniu fazy lamelarnej lipidów z wykorzystaniem odpowiednio zaprojektowanych symulacji dynamiki molekularnej, gdzie monitorowano zdolność spontanicznego tworzenia dwuwarstwy lipidowej z mieszaniny lipidów i wody w obecności określonego surfaktanta. Wreszcie, scharakteryzowanie w symulacjach dynamiki molekularnej zdolności oktenidyny do tworzenia agregatów przed związaniem się z błoną lipidową pozwoliło zinterpretować niejednoznaczne wyniki pomiarów potencjału zeta.

Rozdział 7 nosi tytuł „*A Systematic Approach: Molecular Dynamics Study and Parametrisation of Gemini Type Cationic Surfactants*”). W tej części rozprawy udokumentowane są starania Doktoranta zmierzające do utworzenia bazy danych z podstawowymi informacjami dotyczącymi surfaktantów Gemini. Dla 250 takich surfaktantów, Doktorant w uporządkowany sposób zebrał dane obejmujące ich strukturę chemiczną i wybrane własności strukturalne (np. długości łącznika między polarnymi częściami cząsteczki surfaktanta), wzór stechiometryczny oraz przewidywane wartości współczynnika podziału oktanol/woda i krytycznego stężenia micelizacji. Unikalne identyfikatory surfaktantów w bazie danych są dosyć wyszukane i niestety trudno dostrzec jakiś schemat lub konwencję w tych oznaczeniach. Szkoda, że Doktorant nie zdecydował się na podawanie dla każdego surfaktanta odpowiedniej specyfikacji SMILES co w ew. przyszłych zastosowaniach pozwoliłoby na wyznaczenie arbitralnych własności strukturalnych określonej cząsteczki. Bardzo cennym uzupełnieniem tych danych są towarzyszące im parametry pola siłowego CHARMM 22, które Doktorant zebrał w sposób umożliwiający ich wykorzystanie w pakietach NAMD i GROMACS. Aby zilustrować potencjalne zastosowania bazy danych surfaktantów Gemini, Doktorant wybrał 25 różnych surfaktantów i przeprowadził dla nich szczegółowe analizy dynamiki molekularnej wg dobrze określonego protokołu symulacyjnego. Obliczenia polegały w tym wypadku, na scharakteryzowaniu wpływu obecności cząsteczek określonego surfaktanta na pewne własności strukturalne i mechaniczne błony, której skład lipidowy odpowiadał wewnętrznej błonie bakterii Gram-ujemnych. Ponieważ w publikacji brak jest szczegółowych informacji o budowie tej błony możemy jedynie spekulować, że chodzi o fosfatydyloetanolaminę i fosfatydyloglicerol. Dużą wartością takiego zunifikowanego zestawu najważniejszych informacji o surfaktantach Gemini, byłoby umieszczenie w nich danych, które można porównać z odpowiednimi eksperymentami. O ile w pierwszej publikacji cyklu, Doktorant przeprowadził np. analizę wpływu surfaktantów na własności mechaniczne błony zbudowanej z fosfatydylocholino i fosfatydyloglicerolu, o tyle w tej publikacji brakuje kilku informacji pozwalających na odtwarzanie wyników dla innych surfaktantów (np. skład cząsteczkowy modeli komputerowych, a w szczególności: stosunek molowy między surfaktantem a lipidami). Warto również zauważyć, że skład lipidowy komputerowego modelu błony uniemożliwia porównanie wyników z wcześniej uzyskanymi wynikami odpowiednich badań eksperymentalnych (np. wyznaczenie sztywności zginania błony algorytmem Doctorovej (*Phys. Chem. Chem. Phys.* (2017) 19:16806) i w spektroskopii fluktuacji

blon pęcherzyków). Choć Doktorant w stworzonej bazie danych umieścił parametry pola siłowego CHARMM 22 dla odpowiednich cząsteczek surfaktantów, to jednak podobnie jak w pierwszej publikacji zabrakło walidacji tych parametrów. Nawet jeśli referencyjne parametry termodynamiczne (np. entalpia parowania, gęstość, energia swobodna hydratacji) nie są łatwo dostępne dla dużych cząsteczek, o tyle warto było taką walidację przeprowadzić choćby dla dobrze zdefiniowanych fragmentów cząsteczek (łańcuchy węglowodorowe lub podstawniki aromatyczne). Sam opis parametryzacji jest bardzo lakoniczny. Właściwie jedyną bardziej szczegółowo podaną informacją jest użycie protokołu RESP do wyznaczenia ładunków punktowych dla cząsteczek surfaktantów, ale nawet i w tym przypadku nie wiadomo chociażby, czy owe ładunki były wyznaczone dla jednej wybranej konformacji cząsteczki czy dla większej liczby niskoenergetycznych konformacji. Kryteria wyboru parametrów błony potencjalnie skorelowanych z aktywnością antybakteryjną surfaktantów też nie są jednoznacznie zdefiniowane. W większości przypadków, Doktorant zdecydował o rozpatrywaniu tych parametrów, które dla różnych surfaktantów przyjmują wartości z szerokiego przedziału. Sztywność zginania błony ostatecznie znalazła się w wąskiej grupie różnicujących parametrów a jednocześnie w grupie 25 bardziej szczegółowo analizowanych surfaktantów jej wyznaczone wartości mieszczą się w przedziale od 12.5 do 14.5 kT. Bodaj największym niedopowiedzeniem w tej publikacji jest brak mikrobiologicznej weryfikacji (wystandaryzowane oznaczenia MIC) przewidywań aktywności antybakteryjnej surfaktantów, które Doktorant wskazał jako potencjalnie najbardziej odpowiadające profilowi indukowanych zmian w strukturze i własnościach mechanicznych błon, który wcześniej scharakteryzowano dla oktenidyny.

Rozdział 8 nosi tytuł „*Towards Mimetic Membrane Systems in Molecular Dynamics: Characteristics of E. Coli (sic!) Membrane Systems*”. W publikacji nr 3, Doktorant opisuje bardzo zaawansowany komputerowy podwójnej błony bakterii Gram-ujemnej. Błona zewnętrzna ma asymetryczną budowę: listek zewnętrzny zbudowany z 52 cząsteczek lipopolisacharydu (LPS) a listek wewnętrzny z odpowiedniej liczby fosfatydyloetanolaminy i fosfatydyloglicerolu. Skład lipidowy obu listków błony wewnętrznej jest ten sam i zawiera fosfatydyloetanolaminę, fosfatydyloglicerol i kardioliopinę. Szkoda, że w tekście publikacji oznaczeniom poszczególnych lipidów nie towarzyszą odpowiednie nazwy chemiczne (nie ma ich również w wykazie skrótów rozprawy). W symulacji dynamiki molekularnej takiego uwodnionego układu podwójnej błony bakteryjnej pokryto 300 ns. Jak wskazuje przebieg profilu gęstości (atomowej? elektronowej?, por. Fig 1) czas pokryty w symulacji jest wystarczająco długi aby poprawnie opisać przekrój poprzeczny przez taki układ podwójnych błon, jednak widoczne w profilu nieregularności świadczą o tym, że pełne próbkowanie przestrzeni konformacyjnej lipidów w obu listkach błon wymaga dłuższych czasów symulacji. Analiza profilu gęstości wskazuje jeszcze na jedną cechę badanego układu dwóch błon: otóż warstwa wody, która je rozdziela nie osiąga gęstości obserwowanej dla zewnętrznej warstwy wody. Warto zastanowić się, czy liczba cząsteczek wody w tej wewnętrznej warstwie jest wystarczająca i czy skutecznie izoluje oddziaływania między lipidami zewnętrznego listka błony wewnętrznej i wewnętrznego listka błony zewnętrznej (tym bardziej, że Autorzy wskazują tu na istotny wpływ błony wewnętrznej na własności błony zewnętrznej). Doktorant w publikacji wyznacza wiele wartościowych parametrów strukturalnych i mechanicznych błon ujętych w modelu komputerowym. Warto jednak zauważyć, że badania zmian wielu parametrów strukturalnych błony (np. APL (tj. powierzchni na cząsteczkę lipidu)) z założenia są obarczone pewnym błędem systematycznym (skład cząsteczkowy listków i błon jest ustalany na początku symulacji i nie ulega zmianie w jej trakcie). Chociaż brakuje porównań z wynikami innych badań (w tym eksperymentalnych), co w praktyce uniemożliwia ocenę wiarygodności uzyskanych wyników, to jednak wartości tych parametrów dla dwóch alternatywnych układów różniących się obecnością łańcucha O-

swoistego w LPS dobrze ilustrują główne przesłanie tej pracy, tj. związek między składem cząsteczkowym błony a jej własnościami.

Rozdział 9 nosi tytuł „*Diptool – A Novel Numerical Tool for Membrane Interactions Analysis, Applying to Antimicrobial Detergents and Drug Delivery Aids*”. Ta ostatnia publikacja cyklu stanowi ładne domknięcie cyklu doktorskiego ponieważ (1) nawiązuje do wyników badań oddziaływań z błoną oktenidyny i chlorheksydyny z pierwszej publikacji cyklu; (2) adresuje problem efektywności obliczeń takich oddziaływań, który dostrzeżono w publikacji nr 2; (3) daje nadzieję, że w przyszłości będzie można rozwinąć tę metodę symulacji na błony o różnym składzie – zatem zagadnienie podejmowane w publikacji nr 3. Sam algorytm *Diptool* sprawia wrażenia bardzo przemyślanego a wstępne wyniki uzyskane dla oktenidyny i chlorheksydyny są bardzo zachęcające. Bardzo efektywnym (i efektownym) przybliżeniem błony lipidowej jest wykorzystanie rozkładów momentów dipolowych lipidów oraz wykorzystanie lepkości właściwej dla wnętrza błony oraz arbitralnego ograniczenia na wartość energii kinetycznej surfaktanta jako czynników determinujących jego ruchliwość we wnętrzu błony. Dużą zaletą nowej metody symulacji jest możliwość sparametryzowania w *Diptool* różnych błon i surfaktantów. W nawiązaniu do parametryzacji dwuwarstwy lipidowej warto byłoby w przyszłości rozważyć, czy zmiana reprezentacji błony z jednolitej warstwy o grubości ok 4 nm reprezentowanej przez jeden parametr lepkości na układ dwóch interfaz woda/błona (pierwszy parametr lepkości) rozdzielonych hydrofobowym wnętrzem błony (drugi parametr lepkości) pozwoliłaby na lepsze odtwarzanie złożonego procesu wiązania się z błoną różnych związków błonowo czynnych.

Poprawność językowa pierwszych czterech rozdziałów rozprawy (a więc z wyłączeniem streszczenia w języku polskim w Rozdziale 5 oraz przedruków czterech publikacji) jest zadowalająca. W tekście rozprawy można dostrzec błędy językowe i literówki (np. str 17, „*Does electrostatic matter?*” zamiast „*Does electrostatics matter?*”, „*the mechanism of octenidine*” zamiast np. „*the mechanism of action of octenidine*”; str 20, „*in Molecular Dynamics*” zamiast „*in Molecular Dynamics Simulations*”), nietypowe połączenia wyrazów (kolokacje) oraz stylistycznie zawile frazy, które utrudniają zrozumienie przekazu (np. str 24, „*In theoretical modeling simplifications often occurs however, it has to be highlighted that it may result in suppressed or elusive biological phenomena*”), oraz błędy interpunkcyjne (np. wtrącenia ze słowem *however* w zdaniu cytowanym powyżej). Warto tu jednak zauważyć, że treść publikacji zawartych w rozprawie (Rozdziały 6-9) została opracowana z większą starannością, szczególnie w zakresie właściwego i rozumiałego doboru słownictwa, stylu tekstu oraz interpunkcji.

Jest w tej rozprawie wiele elementów które można polubić i trzeba docenić. W rozprawie są drobne niedociągnięcia, które jednak nie przesłaniają wartościowej pracy wykonanej przez Doktoranta. Mgr inż. Mateusz Rzycki wykazał się niewątpliwie cierpliwością, wytrwałością i kreatywnością a imponujący warsztat badawczy jakim dysponuje umożliwił pomyślne osiągnięcie postawionych celów badawczych. Warto również podkreślić, że Doktorant w trakcie realizacji swojego projektu badawczego wykazał się samodzielnością i dojrzałością naukową obejmując wiodącą rolę w procesie opracowywania publikacji przyjmując z powodzeniem rolę pierwszego autora i autora korespondującego w każdej z czterech publikacji swojego cyklu doktorskiego.

Podsumowując stwierdzam, że w mojej ocenie rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Rzyckiego spełnia zarówno ustawowe jak i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk fizycznych. Z uwagi na wysoki poziom badań przeprowadzonych przez Doktoranta, szeroki zakres umiejętności jakimi musiał się wykazać aby je przeprowadzić, potencjalnie duże znaczenie osiągniętych wyników oraz Jego dojrzałość naukową, wnoszę o wyróżnienie recenzowanej pracy doktorskiej i proszę o dopuszczenie mgr. inż. Mateusza Rzyckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in blue ink, consisting of two parts: a name that appears to be 'Krzysztof' and a surname that appears to be 'M...'.