

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego**

Imię i nazwisko kandydata: Anna Pankowska

Tytuł rozprawy doktorskiej: Analiza paleoserologiczna populacji historycznych metodami adsorpcyjno-elucyjną, Western blotingu i lektynoblotingu – aplikacje antropologiczne

Promotor: Prof. Dr hab. Krzysztof Szostek.

Promotor pomocniczy/drugi promotor/kopromotor (jeżeli powołany):.....

Recenzent: Dr hab. Marta Krenz-Niedbała

1. Wartość naukowa rozprawy

a. Oryginalność badań (25-200 słów):

W ramach przedstawionej do oceny pracy doktorskiej mgr Anna Pankowska podjęła próbę wykonania analiz paleoserologicznych, mających na celu oznaczenie grup krwi na podstawie ludzkich szczątków kostnych. Materiał historyczny, pochodzący z siedmiu stanowisk archeologicznych, datowanych od X/XI wieku do I połowy XX wieku, obejmował 40 szkieletów osobników dorosłych obojga płci w wieku 20-50 lat. Do analiz pobierano próbki kości i zębów. Zanim jednak Autorka rozpoczęła realizację wymienionych badań, przeprowadziła szereg analiz próbek pochodzących od osób współcześnie żyjących ze znaną grupą krwi z wykorzystaniem wszystkich metod serologicznych i biochemicznych zastosowanych później do oznaczeń materiału szkieletowego. Procedura ta pozwoliła na kontrolę użyteczności poszczególnych metod. Godny uwagi jest fakt, iż Autorka wykonała dodatkowe, czasochłonne (trwające trzy lata) analizy, mające na celu optymalizację zastosowanych w pracy metod biochemicznych.

Badania materiału szkieletowego z wykorzystaniem metod immunologicznych do określania grup krwi rzadko pojawiają się we współczesnej literaturze naukowej. Ma to związek z silnym rozwojem metodyki stosowanej w biologii molekularnej w okresie ostatnich dwudziestu lat, która również pozwala na analizę grup krwi zarówno na materiale współczesnym, jak i subfossilnym. Jednakże, wspomniana dziedzina nauki badająca kopalny DNA ma także swoje ograniczenia, np. związane z degradacją materiału i trudnościami z pozyskaniem DNA zdatnego do analiz. W związku z tym, przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi ważne uzupełnienie wiedzy w zakresie analiz grup krwi w materiale kopalnym, informacja o których jest z przyczyn naukowych istotna, np. na poziomie międzypopulacyjnym do analizy migracji dawnych populacji ludzkich, ewolucji chorób infekcyjnych, czy też na poziomie wewnątrzpopulacyjnym – do analizy pokrewieństwa między osobnikami. Autorka pracy jako pierwsza podjęła próbę zastosowania metody Western blotingu i lektynoblotingu do oznaczeń grup krwi układu ABO ze szczątków osobników pochodzących z populacji szkieletowych. Do zalet tego opracowania niewątpliwie należy optymalizacja metodyki badawczej oraz zestawienie wyników pozyskanych za pomocą metody adsorpcyjno-elucyjnej względem metody Western blotingu i lektynoblotingu.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów (25-200 słów):

Przedłożona do oceny praca doktorska zawiera elementy charakterystyczne dla takiego opracowania: *Wstęp, Cele pracy, Materiały i metody, Wyniki i dyskusja, Podsumowanie, Wnioski i Bibliografia*. Wymienione rozdziały są poprzedzone streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz wykazem stosowanych skrótów, a zakończone spisem tabel oraz spisem rycin.

Wstęp pracy zawiera informacje na temat paleoserologii oraz układu grupowego krwi ABO, w tym historii badań, struktury biochemicznej antygenów i przeciwciał oraz fenotypów i genotypów układu ABO, następnie prezentuje opis cech kości i zębów jako materiału badawczego oraz krótkie omówienie badań paleoserologicznych w opozycji do analiz kopalnego DNA. Rozdział ten jest logicznie skonstruowany i w spójny sposób przedstawia teoretyczne podstawy analiz będących przedmiotem rozprawy. W kilku miejscach brakuje cytacji, np. dotyczącej autorstwa ryciny 1, tabeli 2, źródła informacji o rozkładzie zwłok – Faza I i III. Ponadto, jeśli stwierdzamy, że termin „diogeneza” został zapożyczony od geologów przez antropologów, należałoby raczej zacytować literaturę antropologiczną (np. White i in. 2012 lub DiGangi, Moore 2013) do wyjaśnienia terminu, niż archeologiczną, ponieważ w definicji pojawia się fraza „materiał archeologiczny”, co może być nieco mylące dla czytelnika. Doktorantka niekonsekwentnie stosuje nazwę grupy krwi O – jest opisywana jako „O” i „O” (np. str 21). Nie do końca można się zgodzić ze stwierdzeniem „Przewaga badania białek nad badaniem genów jest ogromna” – jak w tym świetle wygląda przegląd nowoczesnej literatury przedmiotu, bazującej jednak na analizach aDNA? Cel główny pracy jest przedstawiony w jasny sposób, a cele szczegółowe tworzą logiczny ciąg, pokazując kolejne kroki zamierzonych analiz.

W rozdziale *Materiał i metody* Doktorantka zastosowała pewne skróty myślowe – to wymaga poprawy, ponieważ zęby nie mają grupy krwi, a szkielety nie mają płci i wieku (str. 26 i 29). Na stronie 37 cytacja pracy magisterskiej powinna być skorygowana – nie powinno się podawać tytułu pracy; na tej samej stronie widnieje nieprawidłowa nazwa anatomiczna (powinno być „głowy kości udowej”). Literatura przedmiotu wymaga uzupełnienia - poza pracą magisterską Autorka nie podała żadnych cytacji odnośnie do metodyki zastosowanych analiz serologicznych i biochemicznych. Rozdział *Wyniki i dyskusja* zawiera głównie wyniki wykonanych analiz – na 95 stron rozdziału jedynie około dwie strony można zaliczyć do dyskusji. Warto byłoby w ramach tego rozdziału przedstawić badania paleoserologiczne innych autorów, możliwości zastosowania tego typu analiz w antropologii biologicznej i opisać, jakie problemy badawcze można rozwiązać stosując przedstawione metody.

Bardzo ważnym mankamentem badań paleoserologicznych jest wpływ podłoża w pobliżu zalegania szkieletów. Analiza tego czynnika stanowi pierwszy cel szczegółowy rozprawy. Istotne byłoby zatem szersze omówienie wyników tej analizy – kwestii tej poświęcono tylko jedno zdanie. W rozdziale *Wnioski* znalazły się stwierdzenia mające bardziej charakter podsumowania wyników, niż samych wniosków, które powinny mieć raczej charakter uogólnień wynikających z otrzymanych wyników badań. Wniosek nr 1 wymagałby przerehabilitacji – to nie analiza aktywności serologicznej gleby nie miała wpływu na otrzymane wyniki, lecz analiza nie wykazała takiego wpływu. Wyżej wymienione uchybienia nie obniżają jednak wartości naukowej rozprawy.

2. **Wartość merytoryczna rozprawy**

(umiejętność wprowadzenia w tematykę badawczą i jasność sformułowanych hipotez badawczych, dobór metod badawczych i narzędzi statystycznych do analizy danych, sposób

przedstawienia wyników, krytyczna analiza wyników i umiejętność ich interpretacji na tle literatury przedmiotu, jasność i poprawność wniosków) (25-200 słów):

Autorka pracy niewątpliwie wykazała się umiejętnością logicznego i dobrze osadzonego merytorycznie przedstawienia interesującej ją tematyki. Rozprawa doktorska nie zawiera hipotez badawczych, lecz logicznie i precyzyjnie sformułowane cele, które pozwalają na zorientowanie się, krok po kroku, jakie będą etapy planowanych procedur naukowych. Metody badawcze są jasno przedstawione i właśnie sposób ich prezentacji ukazuje dobre zorganizowanie warsztatu naukowego Autorki. Do sprawdzenia, czy istnieje zgodność między uzyskanymi eksperymentalnie wynikami badań grup krwi a rzeczywistą grupą krwi pacjenta zastosowano statystykę nieparametryczną – test chi-kwadrat z modyfikacją Bowkera-McNemara, który wydaje się być wystarczający dla weryfikacji występowania lub braku wymienionych różnic.

Wyniki analiz będących przedmiotem rozprawy są przedstawione w sposób nie budzący zastrzeżeń. W rozdziale *Podsumowanie* znalazły się, nie zamieszczone wcześniej, komentarze Autorki o charakterze krytycznej analizy wyników uzyskanych różnymi metodami. Sądzę, że tego typu istotne informacje powinny znaleźć się w części *Dyskusja i wyniki*, gdyż zazwyczaj *Podsumowanie* odwołuje się do treści zawartych w rozdziałach poprzedzających. Zalecałabym także uzupełnienie rozdziału *Dyskusja i wyniki* o ich interpretację w oparciu o literaturę przedmiotu. Wartość merytoryczna rozdziału *Wnioski* zyskałaby na przeformułowaniu treści, aby przedstawione konkluzje, skądinąd sformułowane w sposób klarowny, uzyskały nieco bardziej uogólniony charakter. Rozdział *Bibliografia* zawiera dobrze dobraną literaturę przedmiotu, co świadczy o dojrzałym podejściu Autorki do rozpatrywanego zagadnienia.

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

(układ pracy, jasność stylu, szata graficzna itp.) (25-200 słów):

Układ pracy jest ogólnie prawidłowy. Zawiera dobrze skonstruowany wstęp, stanowiący właściwą bazę teoretyczną do części eksperymentalnej. Cele pracy są jasno sprecyzowane. Materiał badawczy opisano w przejrzysty sposób. Metody przedstawiono w sposób bardzo wyczerpujący. Rozdział *Wyniki i dyskusja* jest zbudowany nieco nieproporcjonalnie – istotne byłoby szersze przedyskutowanie poruszanych zagadnień. Styl pracy jest jasny, Autorka posługuje się prawidłowym językiem naukowym, wymaganym dla prac biologicznych i właściwym nazewnictwem specjalistycznym. Szata graficzna jest bogata – rozprawa zawiera 36 kolorowych, estetycznie wykonanych rycin, w tym wiele czytelnych zdjęć.

Wyniki, których jest bardzo wiele, są zawarte w 64 tabelach, co w znacznym stopniu ułatwia ich odbiór przez czytelnika. Konstrukcja tabel jest przejrzysta, a podpisy pod tabelami dobrze podsumowują przedstawione wyniki w każdej tabeli. Widoczne są drobne błędy gramatyczne (np. dotyczące odmiany słów) i semantyczne (np. użycie słowa „deontological” zamiast „odontological” albo „częstotliwość” zamiast „częstość”), ale jest ich stosunkowo niewiele. Bibliografia zawiera pojedyncze pozycje nieuporządkowane pod względem kolejności alfabetycznej (poz. 41 i 42, 106 i 107), a w poz. 66 nie podano roku publikacji. Jednakże, drobne potknięcia formalne są nieuniknione w tak długim tekście i w żadnym stopniu nie obniżają wartości pracy.

4. Uwagi krytyczne

Moje uwagi krytyczne dotyczą nie w pełni satysfakcjonującego przedstawienia możliwości i ograniczeń badań paleoserologicznych w szerszej perspektywie. Metody serologiczne i biochemiczne oznaczania grup krwi cechują się pewnymi ograniczeniami, wliczając w to np. zjawisko zmiany aktywności antygenowej przez obecność mikroorganizmów, czy procesy powodujące postdepozycyjną degradację białek. Analizy z wykorzystaniem kopalnego DNA także cechują się ograniczeniami metodycznymi, ale jednak właśnie te ostatnie metody są obecnie w powszechnym użyciu, co nie oznacza ich jednoznacznej wyższości nad metodami klasycznymi. Tym bardziej więc istotne byłoby szersze porównanie obu rodzajów metod. Takie uzupełnienie powinno się znaleźć w dyskusji, razem z przedstawieniem wyników badań innych autorów. Można by także uwzględnić w tytule rozprawy kwestię wykorzystania materiału współczesnego – treść rozdziału *Wyniki i dyskusja* w połowie dotyczy materiału współczesnego i w połowie – historycznego. Jednakże, przedstawione powyżej uwagi krytyczne nie umniejszają wartości naukowej rozprawy.

5. **Ocena końcowa** (uzasadnienie 25-200 słów):

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Anny Pankowskiej dotyczy zagadnienia rzadko obecnie poruszanego w antropologii biologicznej – oznaczania grup krwi na podstawie kości i zębów osobników pochodzących z ludzkich populacji szkieletowych metodami paleoserologicznymi. Zagadnienie to jest istotne z punktu widzenia biologii populacji ludzkich i może posłużyć do opisywania zjawisk biologicznych na poziomie międzypopulacyjnym i wewnątrzpopulacyjnym. Do mocnych stron rozprawy należy przeprowadzenie autorskiej optymalizacji metody Western blotingu i lektynoblotingu oraz porównanie skuteczności metod biochemicznych z metodami serologicznymi, a także przejrzyste przedstawienie uzyskanych wyników. Widoczne jest w tym zakresie solidne przygotowanie merytoryczne Autorki pracy. Wartość rozprawy zyskałaby na wzmocnieniu dyskusji uzyskanych wyników: przedstawieniu ich na tle badań innych autorów, szerszym opisanu możliwości i ograniczeń badawczych metod klasycznych oznaczania grup krwi oraz metod wykorzystujących analizę kopalnego DNA.

Ogólnie rzecz biorąc, analizy wykonane przez mgr Annę Pankowską wpisują się w nurt poszukiwań nowych albo doskonalszych metod analizy materiału szkieletowego – osteologicznego i odontologicznego, które pozwoliłyby udzielić odpowiedzi na pytania dotyczące dróg migracji populacji ludzkich w pradziejach, zróżnicowania biologicznego/pokrewieństwa między populacjami, czy procesów mikroewolucyjnych w populacjach ludzkich, a także takich, które mają zastosowania w antropologii sądowej. Uważam, że opracowanie mgr Anny Pankowskiej w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawie doktorskiej.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **Anny Pankowskiej** spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **Anny Pankowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

TAK

Ja, niżej podpisana wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.
Uzasadnienie wniosku (25-200 słów)

NIE

.....03.01.2019.....
data sporządzenia recenzji


.....
podpis recenzenta

INFORMACJE DLA RECENZENTA:

1. Informacja o wymogach Rady jednostki dotycząca konstrukcji rozprawy doktorskiej link do strony:
<http://www.wb.uj.edu.pl/stopnie-tytul/doktoraty>

2. Po obronie rozprawy doktorskiej Komisja doktorska przedstawia Radzie jednostki organizacyjnej przeprowadzającej przewód doktorski ocenę publicznej obrony oraz projekt uchwały w sprawie nadania kandydatowi stopnia doktora.

3. Proszę o przesłanie elektronicznej wersji recenzji na adres:

wydzial.biologii@uj.edu.pl

Równocześnie proszę przesłać podpisany oryginał recenzji na adres:

**Dziekanat Wydziału Biologii
Uniwersytet Jagielloński
ul. Gronostajowa 7
30-387 Kraków**