

Dr hab. Henryk Głąb
Zakład Antropologii
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych UJ
Email: henryk.glab@uj.edu.pl
Tel. 12486645070
Tel. kom.600316707

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

Imię i nazwisko kandydata: mgr Anna Pankowska

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

Promotor: prof. dr hab. Krzysztof Szostek

Recenzent: dr hab. Henryk Głąb

1. Wartość naukowa rozprawy

Praca doktorska Pani mgr Anny Pankowskiej jest dokonaniem o niepodważalnej wartości naukowej. Doktorantka podjęła próbę wykorzystania metody Westernblotingu i lektynoblatingu do oznaczania białek grupowych krwi w układzie AB0 w historycznych szczątkach ludzkich (kości i zęby). Dysertacja spełnia warunki eksperymentu badawczego o wysokich wartościach poznawczych i metodologicznych.

Rozprawa doktorska Pani mgr Anny Pankowskiej ma typowy układ edytorski dla tego typu opracowań a zatem zawiera następujące rozdziały: spis treści (3-5) abstrakt (6-7), wykaz stosowanych skrótów (8-8), wstęp (9-24), cele pracy (25-25), materiały i metody (26-51), wyniki i dyskusja (52-147), podsumowanie (148-153), wnioski (154-154), bibliografię (155-165), spis tabel (166-168), spis rycin (169-170). Łącznie opracowanie liczy 170 stron.

Wstęp napisany jest z zachowaniem odpowiednich proporcji w odniesieniu do przedstawianej problematyki: paleoserologii, układu grupowego AB0 i jego aplikacji antropologicznych, biochemicznej struktury antygenów i przeciwciał układu AB0, materiałów badawczych stosowanych w paleoserologii z uwzględnieniem kości i zębów, diagenety i

degradacji składników organicznych w materiale historycznym, badań archaicznego DNA.. Autorka sporo uwagi poświęciła zjawisku diagenety co należy uznać za uzasadnione ze względu na rodzaj materiału badawczego i czas jego zalegania w glebie.

Cele pracy przedstawione są w sposób jasny i przejrzysty. Za kluczowe należy uznać optymalizację metod Western blotingu i lektynoblotingu do oznaczeń grup krwi układu AB0 w materiale odontologicznym współczesnym, a następnie osteologicznym i odontologicznym historycznym oraz kontrolę użyteczności metody adsorpcyjno-elucyjnej do analiz materiału historycznego poprzez zastosowanie jej do oznaczeń grup krwi z materiału odontologicznego osób współcześnie żyjących ze znaną grupą krwi. Najważniejszym celem dysertacji jest niewątpliwie sprawdzenie użyteczności metod adsorpcyjno-elucyjnej oraz Western blotingu i lektynoblotingu do oznaczeń grup krwi układu AB0 w materiale osteologicznym oraz odontologicznym historycznym poprzez analizę powtarzalności i wiarygodności otrzymanych wyników.

Rozdział „Materiały i metody” zawiera wszystkie konieczne informacje niezbędne czytelnikowi do śledzenia dalszego postępowania Autorki opracowania. Rozdział ten ma istotne znaczenie ze względu na metodologiczny charakter dysertacji. Doktorantka pozyskała wystarczającą liczbę zębów od osobników żywych (35 kobiet i 31 mężczyzn) o znanej grupie krwi co posłużyło do modyfikowania i dostosowywania metod stosowanych do oznaczania grup krwi w materiale historycznym. Rozkład częstości poszczególnych grup krwi w badanej próbie był zbliżony do rozkładu występującego w populacji polskiej.

Do analiz materiału historycznego wykorzystano szkielety czterdziestu dorosłych osobników z siedmiu stanowisk archeologicznych datowanych od X wieku do pierwszej połowy XX stulecia.

Opis zastosowanych procedur analitycznych jest dokładny i poparty przejrzystymi schematami oraz zestawieniami tabelarycznymi. W sposób prawidłowy została przeprowadzona kontrola czułości i specyficzności reakcji w metodzie Westernblotingu i lektynoblotingu. W analizie statystycznej wyników zastosowano test nieparametryczny chi kwadrat z modyfikacją Mc Nemara-Bowkera dla zmiennych dychotomicznych uwzględniający poprawkę na ciągłość dla małych prób

Zgodnie z oczekiwaniami rozdział poświęcony wynikom i dyskusji stanowi najbardziej rozbudowaną część dysertacji i liczy aż 95 stron tekstu włącznie z tabelami (64) i

rycinami (30). Należy przyznać, że zapoznanie się z wynikami przeprowadzonych analiz zajęło czytelnikowi najwięcej czasu i skupienia. W trakcie wnikliwej analizy przeprowadzonej przez Autorkę prezentacji wyników narzuca się myśl, że mogła zrezygnować z części wykonanych analiz. A mianowicie, ograniczyć historyczny materiał badawczy do dwóch różnoczasowych odpowiednio licznych grup osobników pochowanych w odmiennych warunkach glebowych. Za satysfakcjonujący należy uznać wynik oznaczeń grup krwi z współczesnego materiału odontologicznego metodą Western blotingu i lektynoblotingu., gdzie uzyskano 50% wyników zgodnych i 30% częściowo zgodnych przy 20% łącznie niezgodnych i negatywnych.

Analizy materiału historycznego wykonane metodą adsorpcyjno-elucyjną dały około 62% pozytywnych reakcji, z czego metoda adsorpcji dała 70,5% a elucji 52,5%. Zdecydowanie większy procent pozytywnych reakcji w obu metodach uzyskano z materiału kostnego niż odontologicznego. Odmiennie kształtuje się sytuacja w przypadku metody Westernblotingu i lektynoblotingu., gdzie pozytywne reakcje wystąpiły jedynie w 38% z czego większość w materiale odontologicznym.

Wnioski są dyskretne i wyważone. W tym aspekcie doceniam dojrzałość Pani mgr Anny Pankowskiej. Wykazała umiar i kompetencje naukowe, zwracając uwagę na problemy najbardziej istotne.

2. **Wartość merytoryczna rozprawy**

Należy podkreślić, że Doktorantka umiejętnie wprowadziła czytelnika w problematykę badawczą. Zastosowane strategie analityczne i statystyczne są poprawne zarówno pod względem metodycznym jak i merytorycznym. Analiza wyników nie budzi żadnych zastrzeżeń pomimo mnogości rozpatrywanych współzależności w obrębie dość bogatego materiału badawczego. Należy docenić, że sformułowane wnioski są adekwatne do otrzymanych wyników. Autorka opracowania ma świadomość z niedoskonałości zastosowanych metodologii badawczych. Nie ulega wątpliwości, że tego typu badania nastroczają wielu niedogodności głównie związanych z pozyskaniem wiarygodnego materiału biologicznego. Jest to problem który nęka antropologów historycznych i genetyków zajmujących się archaicznym DNA. Nie zaskoczył mnie wniosek Doktorantki, że najbardziej wiarygodną metodą jest adsorpcja i elucja. Bardzo wysoko oceniam próbę adopcji Western blotingu i lektynoblotingu do badań ludzkiego materiału historycznego w kontekście badań grup krwi w układzie AB0. Wymienione powyżej metody eksperymentalne nakierowane są na badania tkanek „świeżych” stąd kłopoty z dostosowaniem ich do badania białek

pozyskanych z materiału historycznego. Pani mgr Anna Pankowska w sposób właściwy i kompetentny wykorzystała zasoby bibliograficzne (139 pozycji)

3. Poprawność redakcyjna rozprawy

Generalnie układ pracy jest poprawny a w konsekwencji tego faktu rozważania Autorki zachowują ciągłość merytoryczną i logiczną. Autorka swobodnie i dobrze posługuje się językiem polskim a styl jest gładki i przyjazny dla czytelnika. Strona graficzna opracowania nie budzi zastrzeżeń, zarówno ryciny jak i tabele są skonstruowane poprawnie a zatem łatwe w oglądzie.

4. Uwagi krytyczne

Nie jestem przekonany czy najlepszym rozwiązaniem była analiza szczątków z tak wielu (siedmiu) stanowisk archeologicznych. Można się było ograniczyć do dwóch o odpowiednio wysokich liczebnościach, zróżnicowanych czasowo i środowiskowo (gleba). Jak się domyślam pierwotne założenie pracy było inne i prawdopodobnie większy nacisk miał być położony na zróżnicowanie czasowe i środowiskowe związane z zaleganiem w glebie z uwzględnieniem procesów diagenetycznych.

Doktorantka nie uniknęła w tekście kilkunastu błędów literowych co nie jest poważnym uchybieniem przy tak obszernym opracowaniu. Pojawiło się jednak kilka niezręcznych sformułowań.

Przykładowo:

1. „Fragmenty istoty gąbczastej bądź zębiny rozdrabniano przy pomocy móździerza na większe kawałki” str. 44

Jak już rozdrabniamy to na mniejsze kawałki. Powinno być raczej: „Fragmenty istoty gąbczastej bądź zębiny kruszono w móździerzu na odpowiednie (odpowiednio duże) kawałki

2. „...z materiału osteologicznego oraz odontologicznego historycznego...” str. 8

Powinno być raczej :”... z historycznego materiału osteologicznego oraz odontologicznego...”

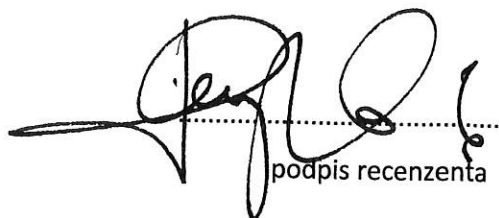
5 **Ocena końcowa**

Pomimo wymienionych powyżej zastrzeżeń, rozprawę doktorską Pani mgr Anny Pankowskiej oceniam wysoko. Doktorantka potrafiła zapanować nad trudnymi i wymagającymi technikami laboratoryjnymi. Zastosowała odpowiednie strategie statystyczne i potrafiła je we właściwy sposób zinterpretować. Jakość dyskusji, podsumowanie oraz przedstawione wnioski końcowe nie budzą zastrzeżeń merytorycznych. Prace o charakterze metodologicznym są trudne i wymagające. Autorka w swojej dysertacji wykazała, że współczesne techniki eksperymentalne i metodologiczne nie są na tyle sprawne aby jednoznacznie określić grupę krwi w układzie AB0 w oparciu o badania historycznego ludzkiego materiału szkieletowego. Potwierdzają to badania prowadzone na mumifikacjach egipskich. Materiał jest łatwy do pozyskania a pomimo tego stosowane strategie eksperymentalne nie dają satysfakcjonujących rezultatów.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **mgr 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 późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **mgr Anny Pankowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

03.01.2019

data sporządzenia recenzji



podpis recenzenta