



Dr hab. Barbara Kwiatkowska prof. uczelni

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Barbary Mnich pt.:
„Gęstość kości a strategie odżywiania subfosylnych populacji ludzkich z terenu
południowej Polski w świetle analiz molekularnych i izotopowych.”

Rozprawa doktorska Pani mgr Barbary Mnich to obszerna, wielowątkowa i nowoczesna opracowanie materiałów szkieletowych pochodzących z dwóch cmentarzysk o szerokim zakresie datowania (XI-XVII w.) z terenu Polski południowej. Praca jest przede wszystkim związana z badaniami i rekonstrukcją diety populacji historycznych na podstawie metod umożliwiających określenie udziału nabiału w pożywieniu i wpływu zawartego w nim wapnia na gęstość mineralną kości.

W badaniach wykorzystano metody biologii molekularnej polegające na analizie polimorfizmu genu (LTC-13910) odpowiedzialnego za trawienia laktozy. Przeprowadzono także badanie obecności i proporcji w kościach stabilnych izotopów wapnia oraz badania densytometryczne określając gęstość mineralną kości.

W związku z tym praca składa się z trzech odrębnych analiz, rozpatrywanych w trzech kolejnych rozdziałach, z których każdy zawiera części typowe dla dysertacji doktorskich, czyli wstęp, metody, wyniki i ich dyskusję. W ostatnim czwartym rozdziale Autorka zbiera wszystkie uzyskane wyniki, łącząc je w spójną całość, będącą podsumowaniem badań i określa w ten sposób strategię odżywiania badanych grup ludzkich.

Już na wstępie pragnę zauważyć, że każdy z trzech rozdziałów może stanowić odrębne opracowanie naukowe warte publikacji w wysoko punktowanym czasopiśmie.

Materiał badawczy stanowią dwie populacje: jedna z Sanoka, datowana na XIV-XVII w. z rozległego cmentarzyska przykościelnego zlokalizowanego w centralnej części dobrze funkcjonującego miasta, druga z miejscowości Wawrzeńczyce datowana na XI-XIII w. z cmentarza na którym chowano, zapewne niezbyt zamożną, ludność wiejską. Badaniom poddano materiał 46 kości promieniowych pochodzących z obu wymienionych stanowisk oraz kości i zębów wykorzystanych w badaniach biochemicznych. Materiał nie jest specjalnie liczny, choć liczebność grobów na obu cmentarzyskach sugeruje, że mógłby być większy, rozumiem jednak, że jest ograniczony stanem zachowania kości oraz zapewne wysokimi kosztami badań (prowadzonych m.in. w Instytucie Maxa Plancka).

W mojej opinii w opisie materiału zabrakło nieco podstawowych informacji antropologicznych. Owszem, przedstawia Autorka tło archeologiczne obu badanych grup ludzkich, brakuje jednak danych o proporcjach płci i wieku w chwili śmierci osobników, które powinny się znaleźć już na początku. Z tekstu dotyczącego opisu materiału dowiadujemy się na przykład, że z cmentarza centrum Sanoka wyeksplorowano 266 grobów, jednak jaką liczbę osobników wykorzystano w badaniach dowiadujemy się dopiero w poszczególnych rozdziałach



pracy. Warto byłoby umieścić taką informację w opisie materiału, z określeniem odsetka osobników wybranych do badań z każdej z populacji szkieletowych. Warto byłoby też już na początku pracy ustosunkować się do różnego datowania tych dwóch stanowisk. Przystępując do czytania dalszych części pracy, czytelnik nie wie, czy specjalnie dobrano materiał do badań z dwóch różnych zakresów czasowych i czy będzie to w jakiś sposób wykorzystane oraz czy może to mieć znaczenie dla otrzymanych wyników, czy też nie.

Zastanawia też fakt, że na stronie 43 Autorka podsumowując wyniki rozdziału, zawarła sformułowanie „przy braku różnic środowiskowych i chronologicznych charakteryzujących obie grupy wydaje się, że dieta bogata w mleko i jego przetwory może być czynnikiem różnicującym” a z opisu obu populacji i różnych datowań (na wczesne i późne średniowiecze po okres nowożytny) odnoszę wrażenie, że te różnice jednak są – warto tę kwestię wyjaśnić. Píše wcześniej Autorka na stronie 42, że są znaczące różnice w poziomie izotopowym wapnia w populacji z Wawrzeńców i Sanoka, ale czy to wynika z różnych datowań serii, czy z różnego statusu ekonomicznego nie informuje.

Istotne też wydaje się, uzyskanie już na początku pracy wiedzy o metodach stosowanych do określenia wieku w chwili śmierci badanych osobników. Pomijam w tym momencie fakt, że ustalenie „wieku kalendarzowego” z dokładnością do jednego roku w przypadku badań materiału szkieletów osobników dorosłych budzi moje wątpliwości. O samej „kompleksowej metodzie określania wieku wg Buikstra i Ubelaker’a (1994)” wspomina Autorka dopiero na stronie 73 nadal nie wyjaśniając w jaki sposób oszacowała „wiek kalendarzowy”, bo nie w każdym przypadku jest to środek klasy określonej dla wieku biologicznego. I tak np. w tabeli nr 2 poz. 1 wiek biologiczny 23-26 lat przekłada się na kalendarzowy 24 lata, z kolei w poz. 5 wiek biologiczny określony na 30-35 lat jest wiekiem kalendarzowym 30 lat, a w poz. 6 zakres 28-30 lat jest również uznany za wiek kalendarzowy 30 lat itd.

Rozumiem konieczność jak najdokładniejszego doprecyzowania wieku osobników na potrzeby m.in. badań densytometrycznych, tym niemniej wyjaśnienia ze strony Autorki jaką metodę tej oceny zastosowała wydają się tutaj niezbędne, chociażby w przypadku analizy ryc. 10 lub później (np. tab. 6), gdzie Doktorantka operuje dokładnym wiekiem osobników (np. 28, 33, 42 lata), a przyglądając się pozycjom w tabeli 2 dowiadujemy się, że 42 lata miała zarówno kobieta z kategorii 35-44 lata, jak i 39-44 lata. Warto tę sprawę ujednotlić, a przede wszystkim wyjaśnić przygotowując pracę do druku. Doktorantka w analizie zauważa efekt wpływu diety na obniżenie wartości izotopowych tkanki kostnej i stwierdza istotną zależność wartości izotopowych od wieku kobiet, co tłumaczy okresem ciąży i porodów, ważne więc wydaje się wyjaśnienie kwestii oceny wieku.

Natomiast podkreślić należy rzetelność Autorki w podejściu do przeprowadzanych analiz. Już we wstępie do części badań dotyczącej proporcji izotopów wapnia, Doktorantka bierze pod uwagę wpływ procesów diagenetycznych na ewentualne zaburzenia proporcji izotopów wynikających ze zmian postdepozycyjnych (czym uprzedza ewentualne wątpliwości recenzenta).



Jak zauważa, wapń jest dobrym elementem do badań, ponieważ jego znaczna zawartość w hydroksyapatycie zmniejsza możliwości wchłaniania tego pierwiastka do kości po śmierci osobnika. Pod względem wartości badawczej wapń przewyższa więc azot i węgiel, w przypadku których procesy diagenety są tym większe im dłuższy jest czas zalegania materiału kostnego w glebie. Ta uwaga metodyczna Autorki wydaje się bardzo słuszna i zwraca uwagę innych badaczy na istotne problemy związane z depozycją szkieletów. Autorka rozważa również wpływ spożywania produktów roślinnych i białka zwierzęcego na ewentualny poziom izotopów stabilnych wapnia w kościach, zauważa jednak, że wpływ na zmianę poziomu troficznego miałyby jedynie spożywanie kości zwierząt, a te jako składowe diety populacji ludzkich raczej popularnie nie występowały (chyba, że szpik kostny lub wysysanie nasad). Tak więc głównie na zawartość wapnia w kościach mogło wpływać spożywanie mleka oraz jego przetworów i przyswajanie związane z tolerancją (lub nie) laktozy.

Interesującym aspektem pracy wydaje się również uwzględnienie kwestii dostępności i przyswajania wapnia oraz gospodarki mineralnej w okresie ciąży i laktacji.

Analiza diety paleopopulacji pod względem spożywania produktów bogatych w wapń (mleko i jego przetwory) jest nadal kwestia otwartą, a piśmiennictwo z tego zakresu stosunkowo ubogie, tak więc należy uznać, że badania Doktorantki rzucają światło na to zagadnienie.

Rozdział drugi dotyczący badań nietolerancji laktozy jest kolejną znaczącą analizą istotną dla określenia diety i obyczajów żywieniowych populacji historycznych. Zagadnienie jest wciąż nie do końca poznane, brak jest jednoznacznej opinii autorów co do momentu pojawienia się jako cechy uwarunkowanej genetycznie, tolerancji laktozy u dorosłych osobników. Nadal otwarta jest także kwestia wpływu zmian wynikających z przejścia populacji neolitycznych na osiadły tryb życia oraz związane z tym udomowienie i hodowla zwierząt. Myślę, że praca Doktorantki może istotnie przyczynić się do rozwiązania niektórych kwestii tego problemu. Autorka na podstawie zastosowanej w badaniach metody przepustowego sekwencjonowania DNA stwierdza, że znaczna część osobników w badanych populacjach nie tolerowała laktozy. Wagę uzyskanych wyników podkreśla fakt, że zostały one ujęte w bazie danych NCBI Sequence Read Archive, a także opublikowane we współautorskiej pracy w czasopiśmie PLoS One (2018). Dodać należy, że spostrzeżenia Autorki, oprócz osiągnięcia stricte biologicznego mają znaczenie w interdyscyplinarnych analizach kwestii społeczno-kulturowych. Można wyciągnąć wniosek, że w diecie dawniej żyjących dorosłych osobników musiały być spożywane raczej produkty przetworzone, niż świeże mleko wywołujące u około połowy populacji dyskomfort ze strony układu pokarmowego.

Rozdział trzeci dotyczy dalszych analiz związanych z dietą bogatą w wapń. Doktorantka w pierwszej części rozdziału przedstawia obszernie metody badań densytometrycznych, uzasadniając wybór metod do badań populacji historycznych. Ta część ma co prawda za zadanie uzasadnić dobór właściwej metody do badań materiału szkieletowego, jednak w mojej opinii jest nieco za bardzo rozbudowana, zwłaszcza, że metody dedykowane do tego typu badań są już



proponowane przez innych badaczy (m.in. polskich). Autorka wybiera ostatecznie dwie metody: DXA (absorcyjometria podwójnego promieniowania Rtg) i QUS (metoda ultradźwiękowa), weryfikując prawidłową interpretację wyników. Metodę DXA uznaje za skuteczniejszą i lepiej sprawdzającą się w przypadku materiału kostnego. Tu pochwalić warto krytyczne i rozważne podejście Doktorantki do metod badawczych – jest to nieczęsto spotykany walor u młodych naukowców. Wyniki analizy nie zaskakują. Zgodnie z oczekiwaniami Autorka zaobserwowała istotne różnice między płciami, a także spadek gęstości tkanki kostnej z wiekiem, szczególnie wśród nieco starszych kobiet z Sanoka, co tłumaczy efektem ciąży i okresów laktacji. Także przy użyciu wskaźnika masywności próbuje Autorka uzasadnić wpływ obciążeń biomechanicznych na gęstość kości – to z kolei bardzo interesujący aspekt badań, który warto rozwinąć i kontynuować na większych próbach.

Ostatni, czwarty rozdział przedstawia sumaryczny wpływ czynników: żywieniowego (ilość wapnia w diecie) i genetycznego (nietolerancja laktozy) na gęstość kości. Analiza przeprowadzona przy zastosowaniu metody skupień pozwoliła potwierdzić przewagę czynnika fizjologicznego i biochemicznego nad społeczno-kulturowymi zależnościami. Tym niemniej wszystkie poczynione przez Doktorantkę obserwacje pozwalają przede wszystkim na kompleksową ocenę udziału mleka i jego przetworów w diecie, uzupełniając tym samym informacje jakie mogłoby wynikać jedynie z badań izotopów węgla i azotu. Ta wiedza ma znaczący wpływ także na inne badania związane m.in. z paleopatologią i kondycją biologiczną oraz obyczajowością dawniej żyjących populacji.

Wykorzystane w opracowaniu piśmiennictwo jest imponujące (234 pozycje), aktualne i prawidłowo cytowane, przypominam jednak Autorce, że cytacje w przypadku kilku kolejnych w nawiasie, należy porządkować według lat publikacji. Warto także podkreślić, że praca jest napisana bardzo ładnym, zwięzłym językiem polskim i porządnie przygotowana pod względem edycyjnym, nie zauważyłam literówek i błędów interpunkcyjnych.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że rozprawa doktorska Pani mgr Barbary Mních wnosi istotny wkład w badania populacji dawniej żyjących. Zastosowanie najnowszej metodyki, rzetelne i krytyczne podejście do uzyskanych wyników, wielostronna interpretacja, jak i konstruktywnie przedstawione wnioski stawiają dysertację w szeregu bardzo dobrych prac z zakresu biologii człowieka. Pewne mankamenty zauważone przez recenzentkę w najmniejszym stopniu nie negują wartości merytorycznej rozprawy i zapewne mogą być uporządkowane przed oddaniem pracy do druku.

W związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Barbary Mních do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne, jak również wyróżnienie jej rozprawy doktorskiej.

Wrocław dn. 18 kwietnia 2021 r.


Dr hab. Barbara Kwiatkowska prof. nadzw.