

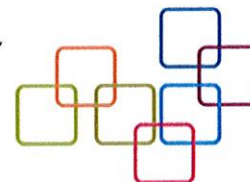


AB 1494

UNIwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. Gagarina 11, 87-100 Toruń
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
ul. Jagiellońska 13-15, 85-067 Bydgoszcz

KATEDRA MEDYCYNY SĄDOWEJ

ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz
tel: 52 585 35 52, fax: 52 585 35 53, email: kizmedsad@cm.umk.pl



Bydgoszcz, dnia 29.08.2023 r.

Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Pauliny Borówki pt. „Zróżnicowanie genetyczne populacji ludzkich zamieszkujących teren dzisiejszej Polski we wczesnym średniowieczu”

Kwestia pochodzenia ludności zamieszkującej większą część Europy środkowej i wschodniej, a w węższym ujęciu również tereny naszego kraju, od ponad stu lat przykuwa uwagę badaczy reprezentujących różne dyscypliny naukowe. Tradycyjnie zajmowali się tym zagadnieniem humaniści, a więc archeolodzy, prahistorycy i paleojęzykoznawcy. Stosunkowo wcześniej dołączyli do nich antropolodzy fizyczni, najpóźniej zaś genetycy populacyjni. W ciągu ostatnich niecałych dwóch dekad obserwujemy wyraźne przyspieszenie w odtwarzaniu przeszłości populacji z wykorzystaniem metod molekularnych, czemu sprzyja dokonująca się na naszych oczach transformacja genetyki w genomikę. Jest ona możliwa dzięki dużemu postępowi technologicznemu, wyrażającemu się m.in. upowszechnieniem technologii sekwencjonowania wysokoprzepustowego (ang. *massively parallel sequencing*, MPS). Coraz częściej również i z coraz lepszymi wynikami zagadnienia etnogenetyczne podejmowane są poprzez bezpośrednią analizę DNA z materiału kopalnego, a nie tylko współczesnego z zastosowaniem różnych modeli powstawania zmienności DNA w czasie i przestrzeni.

Zasygnalizowane powyżej uwarunkowania sprawiają, że Doktorantka, podejmując problem zróżnicowania wczesnośredniowiecznych populacji zamieszkujących teren dzisiejszej Polski z wykorzystaniem analizy pełnych genomów jądrowych, bez wątpienia wpisuje się w aktualne trendy w badaniach archeogenomicznych. Co więcej, badaniami tymi Kandydatka do stopnia naukowego wypełnia istotną lukę w istniejącym stanie wiedzy, gdyż w istocie dane pełnogenomowe dotyczące populacji zamieszkujących w przeszłości tereny naszego kraju umieszczone w publikacjach i bazach danych są bardzo fragmentaryczne i

mało reprezentatywne. Autorka rozprawy postawiła sobie za główny cel określenie zróżnicowania genetycznego populacji zamieszkującej dzisiejsze tereny naszego kraju we wczesnym średniowieczu. Cele dodatkowe, ściśle związane z celem głównym dotyczyły reprezentatywności próbki populacyjnej z terenu Kujaw dla całego obszaru wczesnośredniowiecznej Polski, określenia ewentualnego mieszanego pochodzenia biogeograficznego w próbce z Lutomińska w kontekście doniesień o skandynawskim pochodzeniu części elit pierwszych Piastów i wreszcie wstępnej weryfikacji hipotezy o braku ciągłości zasiedlenia terenów Polski pomiędzy wczesną epoką żelaza a wczesnym średniowieczem. Aby tak postawione cele zrealizować, mgr Paulina Borówka zsekwencjonowała pełne genomy z materiałów szkieletowych z wczesnego średniowiecza (n=111), reprezentujące kulturę łużycką (n=2) oraz okres wpływów rzymskich (n=7). Uzyskane dane zinterpretowała z wykorzystaniem opublikowanych wyników badań dotyczących innych populacji z odpowiednich okresów historycznych i prahistorycznych, ze szczególnym uwzględnieniem próbek przypisywanych różnym grupom Wikingów.

Rozprawa mgr Pauliny Borówki ma generalnie właściwy układ charakterystyczny dla opracowań o charakterze eksperymentalnym. Zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, adekwatny do tematu pracy wstęp, jasno określone cele, obszerną charakterystykę materiału biologicznego, właściwy opis metod molekularnych i statystycznych, szczegółowo przedstawione wyniki badań dotyczące poszczególnych stanowisk archeologicznych oraz dość zwięzłą dyskusję. Na podstawie wyników badań Doktorantka sformułowała sześć uprawnionych wniosków końcowych. Praca zawiera wykaz piśmiennictwa obejmujący 215 dobrze dobranych pozycji oraz załącznik w postaci 34 tabel i jednej ryciny ze szczegółowymi danymi dotyczącymi wyników sekwencjonowania, macierzami odległości, wartościami statystyk f3 i f4, oznaczeniami haplogrup markerów haploidalnych oraz przykładowymi wynikami analizy uszkodzeń w zbadanym DNA (tabele w załączniku dotyczą zarówno materiału badanego, jak i niektórych wskaźników wykorzystanego materiału porównawczego). Drobną uwagę co do struktury pracy dotyczy umieszczenia rozdziału pt. „Charakterystyka materiału aDNA” za celem pracy, a przed właściwym opisem materiału. Ponieważ rozdział ten zawiera szereg informacji teoretycznych odnoszących się do specyfiki kopalnego DNA jako takiego oraz relacjonuje szereg wyników badań innych autorów zawierając pokazną liczbę cytowań, powinien znaleźć się raczej we Wstępie rozprawy.

Wstęp rozprawy mgr Pauliny Borówki zredagowany jest w sposób właściwy, zarówno co do zawartości, jak i objętości. Po krótkim wprowadzeniu do bardzo szerokiej problematyki badań kopalnego DNA, Autorka przechodzi do zrelacjonowania dotychczasowego stanu wiedzy na temat zróżnicowania populacji historycznych i pradziejowych zamieszkujących obszar dzisiejszej Polski, posiłkując się przede wszystkim danymi zgromadzonymi do tej pory przez antropologów fizycznych i genetyków populacji. Takie ujęcie sprawia, że wstęp jest bardzo zwięzły, tym niemniej są w nim wszystkie niezbędne informacje prowadzące logicznie do celu pracy, a jednocześnie niemalże wszystkie wątki z tej części rozprawy znajdują swoje późniejsze odzwierciedlenie i kontynuację w dyskusji.

Mgr Paulina Borówka bardzo szeroko opisała materiał badawczy pozyskany z różnych stanowisk archeologicznych, relacjonując jednocześnie kluczowe ustalenia dotyczące tego materiału wynikające z wcześniejszych badań. Jest to bez wątpienia kolejną zaletą rozprawy. Metody laboratoryjne zostały przedstawione w ten sposób, że zasadniczo istnieje możliwość ich odtworzenia przez inne zespoły badawcze. Słusznie dużo uwagi poświęciła Doktorantka wstępnym metodom oczyszczenia materiału oraz samej ekstrakcji DNA, która jest kluczowa dla powodzenia dalszych etapów pracy z materiałem kopalnym. Na szczególne podkreślenie po analizie tej części rozprawy zasługuje fakt, że Doktorantka bardzo dobrze opanowała złożone, nowoczesne techniki laboratoryjne, takie jak m.in. konstrukcja bibliotek DNA do sekwencjonowania MPS oraz sekwencjonowanie bibliotek z wykorzystaniem platformy NovaSeq 6000 (Illumina). Niewątpliwą zaletą pracy jest również jej bogata i zaawansowana infrastruktura bioinformatyczna i statystyczna, kluczowa dla interpretacji dużej ilości danych pełnogenomowych, przedstawiona w odpowiednich częściach rozdziału „Metody”. Autorka w interpretacji danych posłużyła się analizą głównych składowych (PC), identyczności co do stanu (IBS), statystykami f_3 i f_4 , oraz pomocniczo, oznaczeniami haplogrup markerów haploidalnych – mitochondrialnego DNA (mtDNA) oraz nierekombinującej części chromosomu Y (NRY).

Jak wynika z lektury rozdziału „Wyniki”, Doktorantka prawidłowo zrealizowała cele pracy. Wyniki poszczególnych analiz IBS oraz statystyk f_3 i f_4 zostały przedstawione dla każdego stanowiska archeologicznego z osobna w sposób przejrzysty i zrozumiały, zarówno w warstwie opisowej, jak i graficznej, choć z uwagi na specyfikę danych ta część rozprawy jest dość trudna w odbiorze. Ważnym elementem tej

części pracy jest również wykorzystanie do celów porównawczych danych z piśmiennictwa odnoszących się do różnych regionalnych grup Wikingów, co pozwoliło Doktorantce wykazać m.in. mieszane pochodzenie biogeograficzne populacji lutomierskiej.

W „Dyskusji” Doktorantka w sposób dojrzały i krytyczny zinterpretowała większość wyników badań własnych na tle ustaleń poczynionych przez innych autorów. W warstwie poznawczej praca zdaje się potwierdzać wcześniejsze doniesienia antropologów fizycznych i genetyków o biologicznej ciągłości populacji zamieszkujących tereny dzisiejszej Polski od wczesnej epoki żelaza do wczesnego średniowiecza. Jednocześnie bardzo ważnym ustaleniem pracy jest stwierdzenie o reprezentatywności populacji Kujaw jako „referencyjnej” autochtonicznej populacji Polski z wczesnego średniowiecza. Jest ono istotne dla przyszłych badań o podobnym charakterze, które będą wymagały odpowiednich danych do porównań. Znaczącym, lecz raczej spodziewanym wynikiem jest określenie populacji Polski z tego okresu jako najbardziej zbliżonej do populacji łowiecko-zbierackich post-mezolitycznych oraz rolniczych wywodzących się z Anatolii. Doktorantka wykazała również istnienie wspomnianej struktury genetycznej w populacji lutomierskiej, co jest kolejnym wątkiem interesującym poznawczo, a jednocześnie realizacją jednego z celów pracy. Drobne uwagi co do zawartości rozdziału „Dyskusja” dotyczą umieszczenia w niej rycin dotyczących częstości haplogrup mtDNA, wyników analizy IBS (omyłkowe powołanie w tekście jako Ryc. 55 zamiast 56) oraz wykresu średnich odległości euklidesowych pomiędzy populacjami (brak powołania w tekście). Ponieważ ryciny te zawierają wyniki badań, powinny się znaleźć co do zasady w rozdziale „Wyniki”, a nie w dyskusji.

Wywiązując się z nałożonego przez Wysoką Komisję obowiązku wskazania mankamentów pracy zmuszony jestem stwierdzić, że największą usterką przedłożonej rozprawy jest faktyczny brak odniesienia się do jakości uzyskanych danych pełnogenomowych. W rozdziale „Metody” jest co prawda krótki podrozdział pt. „Autentykacja materiału aDNA” (5.5.8), w którym przywołano wybrane wyniki analizy uszkodzeń DNA (Rycina S35), lecz wątek ten nie doczekał się nawet zdawkowego omówienia w dyskusji. Z analizy Tabeli S34 wynika, iż dane z sekwencjonowania MPS charakteryzowały się niskim pokryciem (z reguły <1). Samo w sobie nie jest to zarzutem, zważywszy na specyfikę materiału kostnego, tym niemniej domaga się odpowiedniego całościowego omówienia lub przynajmniej

komentarza. Tymczasem jedynie gdzieś w rozdziale „Wyniki” znalazły się wzmianki o niskim pokryciu uzyskanym dla niektórych próbek. Odniesienie się do jakości danych jest kluczowe w badaniach kopalnego DNA i zawarte jest w szczegółowych „kryteriach autentyczności” sformułowanych ponad dwie dekady temu [Copper i Poinar 2000, Science 289 (5482):1139]. Nabierają one nowego znaczenia w erze genomiki, zdominowanej przez techniki sekwencjonowania wysokoprzepustowego. Jednym z takich kryteriów jest tzw. „filogenetyczny sens uzyskanych wyników”. Autorka rozprawy mogła dość łatwo to kryterium wypełnić dysponując m.in. haplotypami mtDNA, które mogły być poddane analizie filogenetycznej *a posteriori*, a nie tylko opatrzone czysto mechanistycznym i tak naprawdę niewiele mówiącym parametrem „jakość oceny haplogrupy mtDNA” (Tabela S34). Ponadto zgodnie z dobrą praktyką obowiązującą w środowisku naukowym, dane surowe powinny zostać umieszczone w publicznie dostępnych repozytoriach lub bazach danych. Prawdopodobnie na etapie redagowania tej pracy nie było to jeszcze możliwe do wykonania, tym niemniej będzie musiało być dokonane jeśli rozprawa lub jej wybrane wątki doczekają się publikacji. Reasumując powyższe rozważania uważam, iż w rozdziale „Dyskusja” powinien się znaleźć odrębny i to wcale niekrótki podrozdział dotyczący omówienia technicznej strony przeprowadzonych badań, upewniający czytelników, iż dane są wiarygodne.

Z innych pomniejszych uwag zmuszony jestem zwrócić uwagę na następujące mankamenty:

- „systemowy” błąd w cytowaniach w tekście, polegający na połączeniu nazwisk dwóch pierwszych autorów, zamiast formuły „pierwszy autor i wsp.”, przewijający się przez całą pracę. Przykładowo, na str. 124-125 ten sam artykuł jest cytowany na trzy różne sposoby, z których tylko jeden jest właściwy (błędnie „JarczakGrochowski, 2019; Jarczak i wsp., 2018) oraz prawidłowo (Jarczak i wsp., 2019).

- stosowanie żargonu i zbędnych neologizmów wykorzystujących zapożyczenia z języka angielskiego - np. „outgrupa” (str. 66), zamiast użytego cztery wiersze wcześniej prawidłowego polskiego określenia „grupa zewnętrzna”, „autentykacja” (str. 68); „p-wartość” (str. 67), „tagmentacja” (str. 60) itp.

- stosunkowo liczne błędy językowe, interpunkcyjne i epizodyczne ortograficzne.

Mimo przedstawionych powyżej z obowiązku recenzenta uwag krytycznych uważam, że ustalenia zawarte w rozprawie doktorskiej mgr Pauliny Borówki są

interesujące pod względem poznawczym i skłaniają do dalszych dociekań w zakresie trudnego i złożonego problemu pochodzenia ludności zamieszkującej dzisiejszy obszar naszego kraju. Oceniana praca, będąca bez wątpienia oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego, została wykonana za pomocą zaawansowanych metod molekularnych oraz odpowiednio dobranego i zastosowanego warsztatu statystycznego i bioinformatycznego. Praca została wykonana na bardzo trudnym materiale kopalnym i po raz pierwszy na taką skalę podjęła zagadnienie pochodzenia populacji polskiej z wykorzystaniem sekwencji pełnych genomów jądrowych. Doktorantka bezdyskusyjnie wykazała się niezbędną wiedzą teoretyczną w dyscyplinie nauki biologiczne oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Dlatego też proszę Wysoką Komisję Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Pauliny Borówki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,

Kierownik
Katedry Medycyny Sądowej

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski