

Historia evolutiva de la población vasca: aportación de los polimorfismos del ADN

(Evolutionary history of the Basque population:
Contribution of DNA polymorphisms)

Izagirre, Neskuts; Alonso, Santos; De la Rúa,
Concepción

Univ. del País Vasco

Dpto. de Biología Animal y Genética

Apdo. 644

48080 Bilbao

BIBLID [0212-7016 (2000), 45: 1; 235-256]

El esfuerzo por descifrar el genoma humano ha permitido el desarrollo de nuevos polimorfismos genéticos y técnicas de análisis de gran capacidad informativa desde el punto de vista antropogenético. Los polimorfismos del ADN han ido reemplazando a los denominados marcadores clásicos (ABO, RH, etc...) en la reconstrucción de la historia evolutiva de las poblaciones humanas. Los polimorfismos de ADN permiten la definición de linajes y el análisis filogenético de los mismos, lo que resulta mucho más informativo que el análisis de las frecuencias génicas. Por otro lado, la datación de la antigüedad de estos linajes permite dotar a los perfiles genéticos de un marco temporal, y por tanto contrastarlos con eventos históricos de manera más objetiva. En este trabajo se revisan críticamente los resultados obtenidos durante la etapa de los marcadores clásicos y se recogen las principales aportaciones hasta la fecha, de los nuevos polimorfismos de ADN al esclarecimiento de la historia evolutiva de la población vasca.

Palabras Clave: Polimorfismos clásicos. ADN mitocondrial. Cromosoma Y. ADN antiguo. Polimorfismos del ADN. Historia de la población vasca.

Giza-genoma deszifratzeko ahaleginek, polimorfismo genetiko berrien eta analisietarako ikuspuntu antropogenetiko batetatik ahalmen handia duten tekniken garapena baimendu izan dute. ADN-aren polimorfismoek markari klasikoak (ABO, RH, eta abar) ordezkatu izan dituzte giza populazioen historia ebolutiboaren berreraipenean. ADN-aren polimorfismoek leinu aleiloen definizioa eta beraien analisi filogenetikoak baimendu dituzte, zeina maiztasun genikoen analisia baino askoz ere informatiboagoa bait da. Bestalde, leinu hauen datazioa ere posible da, horrela perfil genetiko hauek marko temporal baten barnean kokatu daitezkeelarik eta ondoren gertaera historikoekin konparatu objektiboki. Lan honetan markari klasikoaren epealdian lortutako emaitzak kritikoki eztabaidatuko dira eta gaurdaino ADN-aren polimorfismo berriek euskal populazioaren historia ebolutiboa argitzeko egindako ekarpenak bildu ditugu.

Giltz-Hitzak: Polimorfismo klasikoak. ADN mitokondrial. Y kromosoma. Antzinako ADN. ADNren polimorfismoak. Euskal biztanleriaren jatorria.

L'effort fournit pour déchiffrer le génome humain a permis le développement de nouveaux polymorphismes génétiques et techniques d'analyses d'une grande capacité informative d'un point de vue anthropogénétique. Les polymorphismes de l'ADN ont remplacé ce qu'on appelle les marqueurs classiques (ABO, RH, etc...) dans la reconstruction de l'histoire évolutive des populations humaines. Les polymorphismes de ADN permettent la définition de lignages et leur analyse phylogénétique, ce qui nous donne beaucoup plus d'informations que l'analyse des fréquences géniques. D'un autre côté, l'estimation de l'ancienneté de ces lignages permet de doter les profils génétiques d'un cadre temporel, et donc de les contraster avec des événements historiques de manière plus objective. Dans ce travail, on étudie de façon critique les résultats obtenus durant l'étape des marqueurs classiques et l'on recueille les principaux apports, jusqu'à ce jour, des nouveaux polymorphismes d'ADN pour élucider l'histoire évolutive de la population basque.

Mots Clés: Polymorphismes classiques. ADN mitochondrial. Chromosome Y. ADN ancien. Polymorphismes de l'ADN. Histoire de la population basque.

1. INTRODUCCIÓN: DE LOS POLIMORFISMOS “CLÁSICOS” AL ADN

En Septiembre de 1987 se celebró en Vitoria-Gasteiz el Congreso de Antropología en el marco del II Congreso Mundial Vasco. Uno de los objetivos del mismo era dar a conocer, desde el rigor académico y científico, el papel jugado por la población vasca en los estudios de la reconstrucción de la historia evolutiva humana. Por aquel entonces, la antropogenética trataba de explicar nuestra historia evolutiva en función de los cambios de las frecuencias alélicas de marcadores genéticos tales como los grupos sanguíneos (ABO, RH, etc.) y diferentes proteínas plasmáticas, siguiendo las tendencias que el desarrollo de las técnicas analíticas ofrecía desde mediados de los 60. El tipaje de los grupos sanguíneos fue posible a principios del siglo XX, desde el trabajo pionero de Karl Landsteiner sobre el grupo sanguíneo ABO; a mediados de los 50 se desarrollan las técnicas de electroforesis en geles de almidón, que permitieron detectar la variación genética existente a nivel proteico y en los 80 el isoelectroenfoque incrementa los niveles de variabilidad proteica detectables en las poblaciones humanas.

Desde los años 70, sabemos que sólo una pequeña fracción de la diversidad genética humana total se puede atribuir a diferencias entre los grandes grupos humanos y que la mayor parte de esta diversidad, medida en términos de variación de las frecuencias alélicas, se debe a la variabilidad intragrupal (Lewontin 1972). Sin embargo, es posible reconstruir al menos parte de nuestra historia evolutiva, de los procesos demográficos que han tenido lugar a lo largo de la historia, mediante el análisis comparativo de los perfiles de diversidad genética de las poblaciones actuales. Toda la actividad de esas décadas con este tipo de marcadores genéticos, hoy denominados “clásicos”, se encuentra compilada en la obra enciclopédica de L.L. Cavalli-Sforza, P. Menozzi y A. Piazza (1994). En ella se recogen 76.676 frecuencias génicas de entre las publicaciones generadas en los años anteriores; tras un proceso de selección se analizan 120 frecuencias alélicas independientes en 42 poblaciones mundiales, entre ellas la población vasca. Cavalli-Sforza et al. (1994) proponen una reconstrucción de la historia de los genes humanos mediante análisis estadísticos multivariantes, que generan representaciones gráficas llamadas mapas sintéticos. Dicho análisis permite resumir la información de múltiples frecuencias alélicas (multidimensionalidad de los datos) en un número reducido de factores independientes, más fácilmente interpretables y representables gráficamente que las variables iniciales.

En lo que respecta a la población vasca, las frecuencias génicas de los marcadores “clásicos”, sitúan a ésta en el rango de la diversidad genética europea. Sin embargo, se ha sugerido que la población vasca podría conservar en mayor medida un componente pre-neolítico europeo (Menozzi et al. 1978; Cavalli-Sforza 1988; Piazza et al. 1988; Bertranpetit & Cavalli-Sforza

1991; Piazza 1993; Calafell & Bertranpetit 1994; Cavalli-Sforza et al. 1994). Esto se ha explicado en base a la posible existencia de un flujo génico más restringido con el resto de las poblaciones europeas, en particular durante la fase de expansión de los agricultores neolíticos, iniciada hace unos 10.000 años desde Oriente Próximo (Turquía, Irán, Iraq) hacia Europa (Figura 1). El componente genético neolítico proveniente del Oriente Próximo, habría reemplazado en mayor medida al componente pre-neolítico autóctono en la mayoría de las poblaciones europeas. Esta hipótesis ya había sido lanzada por Mourant en 1947, basándose únicamente en los datos del sistema RH, lo que desde la perspectiva actual, resulta un planteamiento bastante especulativo. Otros autores han propuesto hipótesis alternativas, planteando un origen neolítico de la población vasca, basado en una migración desde del Norte del Cáucaso (Calderón et al. 1998).

Recientemente, se han vertido serias críticas sobre los métodos estadísticos que se han empleado para describir la variación genética humana detectada con los polimorfismos “clásicos”, principalmente sobre los mapas

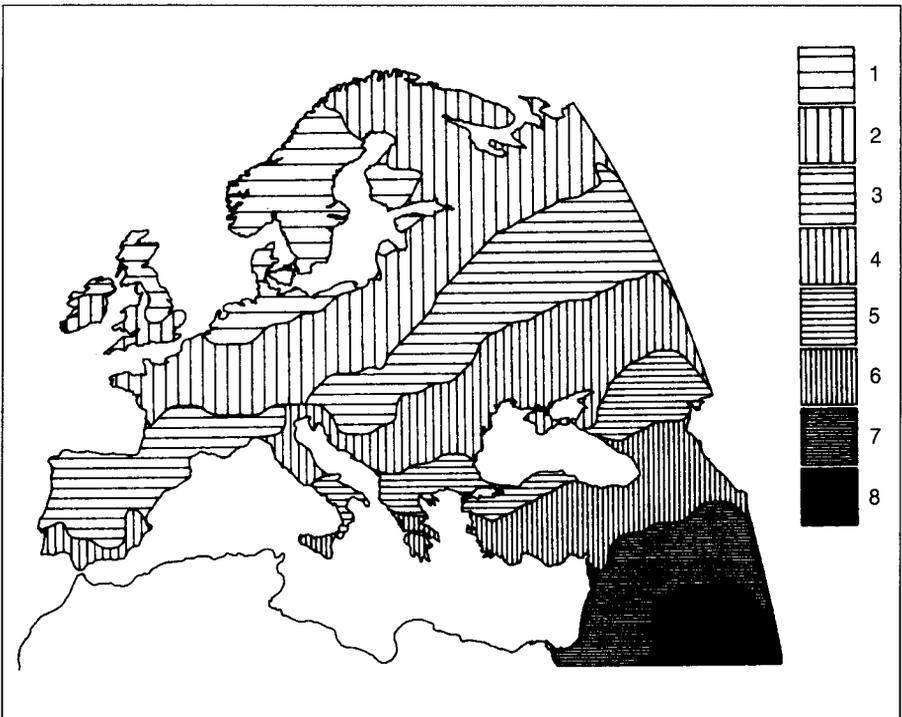


Figura 1. Mapa del primer componente principal de los genes de Europa (con 95 genes, 1993) que muestra la expansión de los primeros agricultores neolíticos a partir de Oriente Próximo. Este mapa geográfico reproduce casi a la perfección el mapa de las fechas de la llegada de los agricultores a Europa. (LL Cavalli-Sforza (1997) *Genes Pueblos y Lenguas*. Drakontos.)

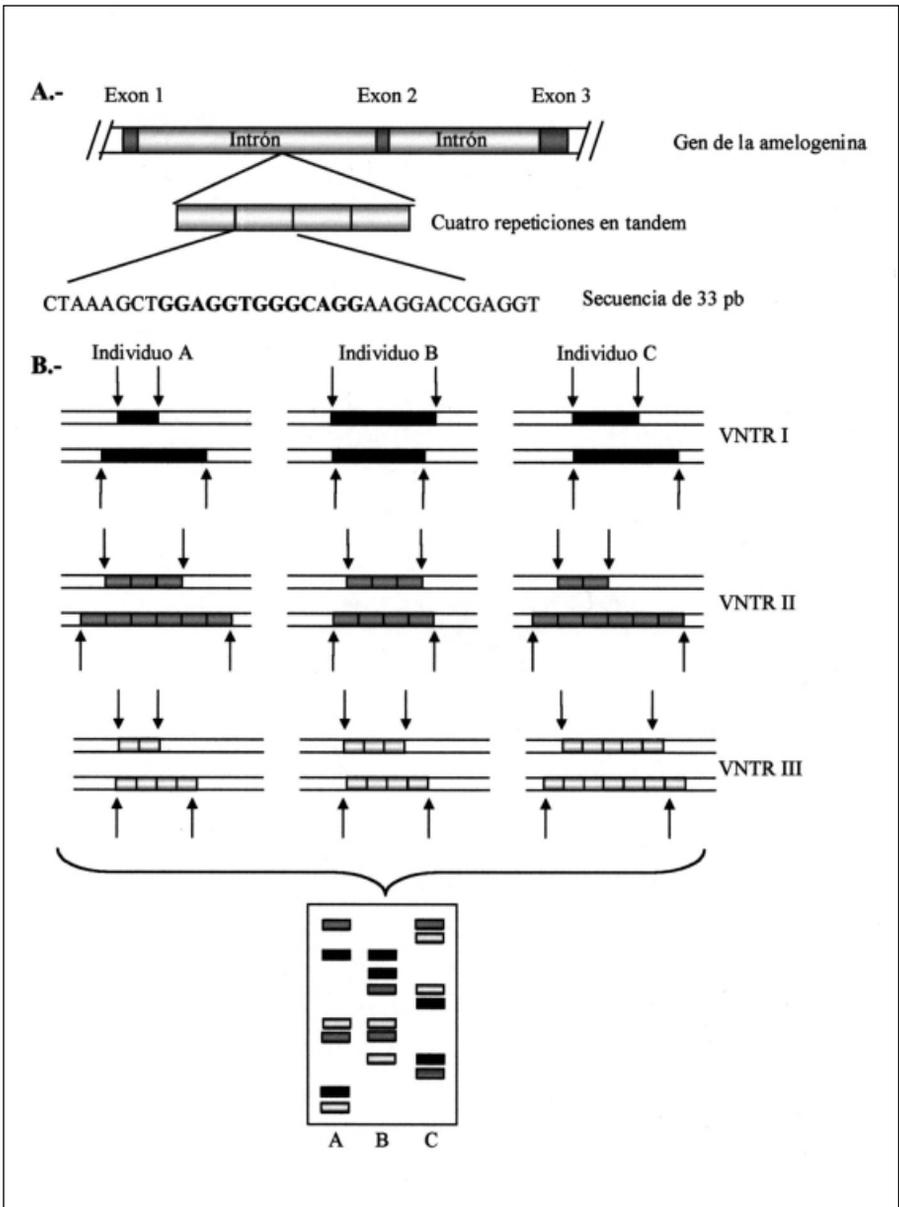


Figura 2. DNA fingerprint de tres individuos utilizando 3 VNTRs diferentes.

A.- En el gen de la mioglobina encontramos un VNTR en uno de los intrones con cuatro unidades de repetición de 33 pares de bases de longitud dispuestos en tandem.

B.- Los individuos presentan en cada uno de los cromosomas homólogos dos copias diferentes del mismo VNTR. Mediante PCR y electroforesis se ponen de manifiesto los tamaños de todas las copias de cada uno de los VNTR. Las bandas, de tres colores diferentes, corresponden a cada uno de los VNTRs.

sintéticos (Sokal et al. 1999a). La construcción de mapas sintéticos se basa en el uso de datos de frecuencias génicas sobre puntos (poblaciones) ideal y homogéneamente distribuidos sobre un área geográfica determinada. Para establecer estos puntos, normalmente se superpone una cuadrícula sobre dicho área, de tal manera que los nodos de esta cuadrícula determinan los puntos geográficos o poblaciones a considerar. Este tipo de muestreo y análisis sin embargo, no se plantea *a priori*, dada la inabordable de la tarea por un sólo equipo investigador. Generalmente es un proceso *a posteriori*, en el que se recopilan los datos de la bibliografía sobre la distribución de las frecuencias alélicas en distintas poblaciones. Obviamente estos datos no se encuentran homogéneamente distribuidos en el espacio y por lo tanto no se ajustan a los nodos de la cuadrícula virtual. Para ajustar la localización de las observaciones reales a las marcadas por los nodos, es necesario hacer una estimación de las frecuencias alélicas en los nodos que carecen de observaciones reales. Para ello se recurre a la interpolación a partir de las poblaciones reales estudiadas, que estén más próximas. Con ello se consigue una distribución de frecuencias alélicas geográficamente homogénea.

Según algunos autores, dicha interpolación puede generar gradientes artificiales, artefactos que no corresponden a la realidad histórica y biológica, que pueden ser difíciles de discernir de ésta y que pueden conducir a falsas inferencias. Incluso datos que son totalmente aleatorios con respecto a su posición espacial, pueden tras la interpolación, producir tendencias y patrones que inviten a realizar interpretaciones históricas. Estas tendencias artefactuales son más relevantes a medida que los datos de partida están más desequilibrados, bien porque unas poblaciones hayan sido mucho más muestreadas que otras, o por el alejamiento de los datos reales de la cuadrícula ideal teórica (ver asimismo Rendine et al, 1999; Sokal et al. 1999b).

¿Cómo afecta esto a las inferencias previas realizadas en torno a la historia evolutiva de la población vasca? Calafell y Bertranpetit (1994), recogen y utilizan datos de distintas poblaciones de la Península Ibérica para una treintena de marcadores clásicos. Sin embargo, analizando estos datos en bruto se observa que si bien el sistema ABO se ha analizado en 181 poblaciones, para el sistema RH en cambio ya sólo se incluyen 73 poblaciones, para el sistema MN, 51 y más de la mitad de los sistemas genéticos sólo se han analizado en un número muy limitado de poblaciones, entre 10 y 25. Claramente se han tenido que interpolar muchas frecuencias alélicas en gran número de poblaciones. Por otro lado, la población vasca es una de las más analizadas desde los primeros estudios de antropogenética, dado el interés que le confería su singularidad lingüística (Bosch-Gimpera 1943; Mourant 1947). Por tanto, es posible pensar que las interpolaciones centradas en la población vasca hayan podido influir para distorsionar o potenciar erróneamente tendencias que pudieran realmente existir en los datos (Sokal et al. 1999b).

La publicación de la obra de Cavalli-Sforza et al. (1994) supone el fin de una época dedicada al análisis de los marcadores clásicos en antropogenética. Como consecuencia del continuo desarrollo de las técnicas de análisis, recientemente se ha descrito la secuencia de ADN de los cromosomas humanos 21 (Hattori et al. 2000) y 22 (Dunham et al. 1999) y se espera que la totalidad del genoma, ya secuenciado, esté ordenado en breve plazo. Todo ello ha repercutido asimismo sobre la antropogenética, que se ha ido abasteciendo de nuevos métodos y nuevos marcadores, capaces de poner de relieve un mayor grado de diversidad genética (marcadores de ADN, en contraste con los marcadores “clásicos”).

El análisis de las diferencias en las frecuencias alélicas, nos proporciona información sobre la historia evolutiva de las poblaciones, pero escasamente informa sobre los mecanismos que desempeñan un papel relevante en ésta. Con el fin de indagar en los procesos evolutivos responsables de la diversidad actual, actualmente se tiende a considerar el componente filogenético existente entre distintos alelos, es decir, se recoge su genealogía común, para lo cual es preciso que el análisis se realice a nivel del ADN. El volumen de publicaciones relativo a este nuevo tipo de marcadores es ya considerable. En este artículo, nos proponemos revisar la aportación de esta nueva etapa al esclarecimiento de la historia evolutiva de la población vasca.

2. POLIMORFISMOS DE ADN

2.1. Loci microsatélite y minisatélite autosómicos

Menos de un 5% del ADN del genoma humano es codificante, es decir se expresa traducándose en proteínas. La mayoría es no codificante, y de éste, un porcentaje significativo es ADN repetitivo. En los *loci* formados por ADN repetitivo, una determinada secuencia (denominada “unidad de repetición” y diferente en general para cada *locus*), se encuentra repetida un número variable de veces (**Figura 2**). Cuando las copias de la misma unidad de repetición se encuentran concatenadas una a continuación de otra, a modo de vagones de tren, se habla de repeticiones en *tandem*: Dentro de los *loci* formados por repeticiones en *tandem* destacan por su interés antropogenético, los *loci* microsatélite y los minisatélite.

Los *loci* microsatélite están compuestos de unidades de repetición de entre 2 a 5 pares de bases (pb) y los minisatélite de unidades de entre 6 a 100 pb. aproximadamente. En ambos casos, la variabilidad en el número de repeticiones dentro de cada *locus* determina la existencia de diferentes alelos, es decir, su grado de polimorfismo. Los análisis se llevan a cabo mediante técnicas electroforéticas, que permiten identificar los alelos por diferencias de tamaño.

Sin duda, los *loci* microsatélite han sido los más caracterizados a nivel genético-poblacional debido a su abundancia en el genoma, la facilidad de análisis y tipaje, y sobre todo por su considerable grado de polimorfismo (heterocigidades, en general, en torno al 70%, mientras que los marcadores "clásicos", normalmente dialélicos, ofrecen una heterocigidad máxima del 50%). Además, la PCR o Reacción en Cadena de la Polimerasa, permite su tipaje a partir de cantidades de ADN mínimas e incluso es posible analizar de manera simultánea varios *loci* microsatélite en una misma reacción (PCR multiplex), lo que permite el estudio de un número considerable de marcadores de este tipo en varias muestras poblacionales, en un espacio de tiempo razonable (Figura 3).

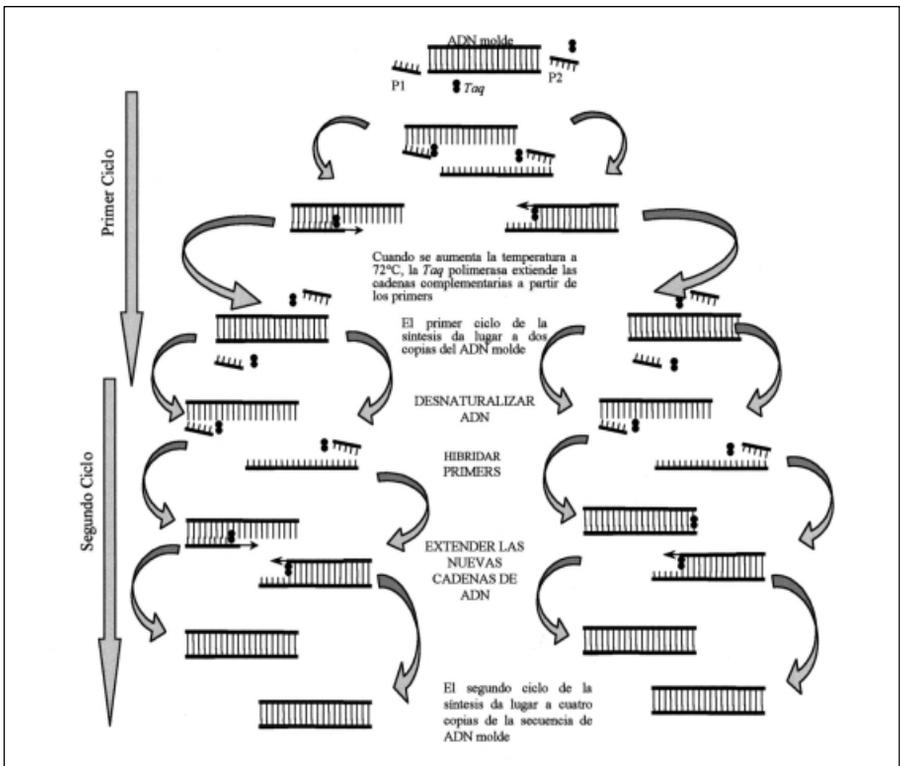


Figura 3. La PCR (Polymerase Chain Reaction) es una técnica basada en una enzima polimerasa especializada, capaz de sintetizar una cadena de ADN complementaria a partir de una mezcla de reacción que contiene las 4 bases nucleotídicas y 2 fragmentos pequeños de ADN (denominados primers) que flanquean la secuencia diana que deseamos amplificar. Esta mezcla, primero se calienta para separar las dobles cadenas de ADN, luego se enfría para permitir que los primers se anillen a sus secuencias complementarias en las cadenas separadas y finalmente la polimerasa empieza a sintetizar la cadena complementaria a partir de los primers. La repetición de estos pasos conlleva la multiplicación exponencial de la molécula de ADN molde, ya que cada nueva doble cadena se separa para convertirse en el molde para los siguientes ciclos. (Primer on Molecular Genetics. DOE Human genome 1991-92 Program Report. 1992).

Hasta el momento es muy pobre la evidencia que se desprende del análisis del ADN microsatélite autosómico (es decir, no ligado a los cromosomas sexuales), sobre la aludida diferenciación genética de la población vasca. En ocasiones, fruto de la inercia de etapas anteriores, la peculiaridad lingüística vasca puede haber sesgado *a priori* las interpretaciones sobre las diferencias genéticas observadas. Asimismo, es común caer en la utilización de las peculiaridades lingüísticas y/o posibles movimientos demográficos prehistóricos, como un recurso puramente *ad hoc*, más o menos especulativo. Como cita Barbujani (2000) “nuestro conocimiento de la historia humana, especialmente en Eurasia, es tal que cualquier hallazgo en genética de poblaciones se puede asociar con un episodio histórico que potencialmente lo puede explicar, pero también con otros procesos históricos que sugieran lo contrario”. Cada vez más sin embargo, se intenta realizar el ejercicio inverso, es decir, recuperar el papel de los datos genéticos para aportar explicaciones a los datos arqueológicos y lingüísticos.

Chikhi et al. (1998), en una revisión de los estudios referentes a Europa, publicados hasta 1997 (datos de 4 microsatélites y 2 minisatélites, en una muestra de unas 44 poblaciones por *locus*), no encuentran evidencia de que la diversidad genética de las poblaciones europeas se hubiera originado anteriormente a la difusión del Neolítico (excluyendo a los Saami y la población turca). Por otro lado, otros autores indican una gran homogeneidad de las poblaciones europeas analizadas, incluida la vasca (Iriando et al. 1996; Pérez-Lezaun et al. 1997).

Ahora bien, que los métodos empleados, incluidos los matemáticos, no detecten heterogeneidad entre las poblaciones europeas, no demuestra su inexistencia. Sin desestimar el efecto homogenizador que ha podido tener el flujo (o intercambio) génico entre poblaciones, hay que tener en cuenta otros factores intrínsecos a la biología de estos marcadores genéticos, que pueden originar esta aparente homogeneidad genética.

Uno de estos factores es la homoplasia, que incluye convergencias, paralelismos o reversiones, y que consiste en la existencia de alelos idénticos en tamaño (igual número de unidades de repetición) pero que no representan copias del mismo alelo progenitor, sino que se han generado por mutaciones independientes, a partir de alelos progenitores diferentes. Ello, aparte de afectar a las reconstrucciones filogenéticas elaboradas con datos de microsatélites (ver Goldstein & Pollock 1997), podría ocasionar errores en el cálculo de la frecuencia de un determinado alelo, al contabilizar como alelos idénticos, alelos que en realidad son genealógicamente distantes.

El efecto homogenizador de la homoplasia se ve potenciado cuando el rango alélico posible se encuentra más restringido, especialmente si la tasa de mutación es elevada. Todo ello origina una pérdida de la información filo-

genética de dichos marcadores, que indudablemente afecta a las “estimas” de tiempos de divergencia y al cálculo de las distancias genéticas, de forma que las poblaciones pueden parecer más próximas genéticamente, de lo que son en realidad.

Otro factor que puede afectar a las reconstrucciones filogenéticas es la tendencia que existe de incrementar el número de *loci* analizados por población a costa de reducir el número de individuos analizados (Mountain & Cavalli-Sforza 1997). El riesgo que este planteamiento conlleva es que cuanto menor es el tamaño muestral, los errores en las “estimas” de las frecuencias alélicas tienden a ser elevados. Si además, los mecanismos mutacionales son poco conocidos, las inferencias extraídas pueden ser escasas y/o poco precisas. Además otro problema que puede sesgar las conclusiones, es la imprecisión de las “estimas” de la tasa de mutación, ya que diferentes *loci* microsatélite poseen distintas tasas de mutación (dificiles de estimar con certeza), pero se tiende a utilizar una tasa de mutación genérica para estos *loci*.

Otros autores sin embargo, sugieren que en el caso de los microsátélites, la principal causa de variación de las frecuencias génicas entre las poblaciones no son, en principio, las mutaciones sino la deriva genética (variación aleatoria de las frecuencias génicas de generación a generación como consecuencia de un tamaño poblacional limitado) (Pérez-Lezaun et al. 1997). Bajo este supuesto, la homogeneidad entre las poblaciones debiera explicarse en función de un ancestro común reciente, de forma que la mutación no habría tenido tiempo de alterar las frecuencias de manera significativa.

Los sistemas minisátélites en cambio, poseen tasas de mutación, en general, más elevadas y rangos alélicos asimismo mucho más amplios. Un sistema minisatélite especialmente informativo es MS205 (tasa de mutación media para alelos de nueva longitud: 0.4% por gameto por generación). Su importancia reside en la elevada cantidad de alelos diferentes detectable, muy superior a la de cualquier sistema microsatélite, siendo posible diferenciar literalmente cientos de alelos distintos y observar heterocigosidades superiores al 99%. Además, el detallado conocimiento de los procesos mutacionales que actúan en este sistema, junto a la fiabilidad de las “estimas” de la tasa de mutación, posibilita la reconstrucción de la historia evolutiva más reciente de los diferentes alelos de este minisatélite (Armour et al. 1993).

La alta tasa de mutación de MS205 permite, junto con los procesos mutacionales particulares de este *locus*, la génesis de un número elevado de alelos, algunos de los cuales serán específicos de las poblaciones en las que se han originado. Si es posible estimar la edad de estos alelos específicos, esto nos puede dar una idea de la edad mínima de la población que los

contiene. Aplicando este planteamiento, Alonso y Armour (1998) observan que la variabilidad minisatélite de la población vasca se enmarca dentro de la del conjunto europeo. Sin embargo, en esta población se ha identificado una serie de alelos cuya edad estimada precede al Neolítico. Ello induce a los autores a apoyar la posibilidad de la continuidad de la población vasca, o al menos de algunos de sus linajes alélicos, desde tiempos pre-neolíticos.

El análisis de un mayor tamaño muestral o de poblaciones adicionales, podría poner de manifiesto en otras poblaciones, la existencia de alelos inicialmente catalogados como “específicos” vascos. Sin embargo, de algunos de estos alelos, no sólo no se ha encontrado *copia* alguna en más de 200 individuos pertenecientes a diversas poblaciones mundiales, sino que tampoco se han identificado alelos *similares* en estructura, que pudieran indicar una relación filogenética más o menos estrecha (Alonso & Armour, 1998). Finalmente, aunque sabemos que la estima de las edades alélicas depende de diversos factores (precisión de los datos y de las tasas de mutación, entre otros), los modelos evolutivos asumidos en el citado trabajo, parecen ser lo bastante conservadores como para avalar la fiabilidad de las conclusiones obtenidas.

2.2. Cromosoma Y

De los 23 pares de cromosomas que componen el genoma nuclear humano, un par particular es el responsable de determinar el sexo de los individuos. Este par de cromosomas, denominados sexuales, en contraposición a los 22 pares restantes (denominados autosómicos), puede estar constituido por 2 cromosomas X (y determinar sexo femenino) o por 1 cromosoma X y otro Y (lo cual determina sexo masculino). Por lo tanto, el cromosoma Y presenta una herencia exclusivamente a través de la vía paterna: sólo los varones podrán pasar un cromosoma Y a sus descendientes, los cuales, de heredarlo, quedarían determinados sexualmente como varones. Los polimorfismos o marcadores contenidos en el cromosoma Y, van a ser por tanto de gran utilidad para poner de manifiesto la aportación exclusivamente masculina, a los movimientos demográficos acaecidos a lo largo de nuestra historia evolutiva (**Figura 4**).

El cromosoma Y presenta una ventaja adicional, ya que la mayor parte del mismo no recombina con su “homólogo” (su pareja, el cromosoma X) y por tanto se va a transmitir a la siguiente generación en un único bloque. No ocurre así en el resto de los cromosomas (autosomas), en los que por efecto de la recombinación, diferentes regiones pueden poseer diferentes historias evolutivas, diferentes genealogías, que coexisten dentro del mismo cromosoma. El cromosoma Y se comporta así como un único *locus* o marcador genético.

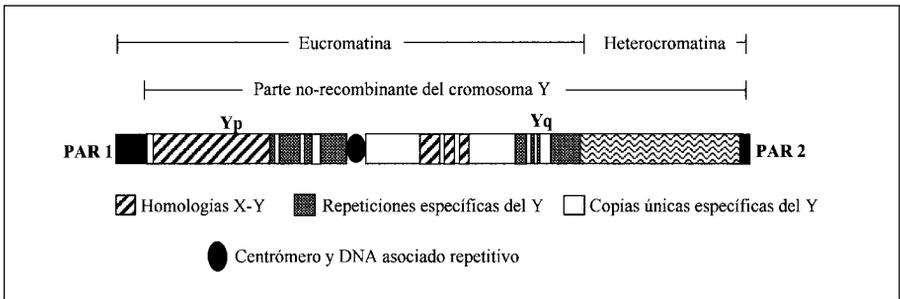


Figura 4. Representación esquemática del cromosoma Y. El óvalo indica el centromero, el cual divide los dos brazos del cromosoma: Yp, el brazo corto y Yq, el brazo largo. Los dos extremos del cromosoma (en negro) representan la región pseudoautosómica (PAR1y PAR2), las cuales son homólogas a secuencias del cromosoma X y sufren por tanto recombinación. La región no-codificante heredada paternamente (NRPY), comprende todo el cromosoma excepto las regiones teloméricas pseudoautosómicas. (MF Hammer & SL Zegura (1996). The role of the Y chromosome in human evolutionary studies. *Evolutionary Anthropology*, 5(4): 116-134).

Dado el tamaño del cromosoma Y (aproximadamente 60 Megabases; 1Mb=10⁶ pb), es posible hallar diferentes clases de marcadores genéticos (micro y minisatélites, polimorfismos de sustitución...), cada uno de ellos con diferentes ritmos evolutivos, lo que permite la definición de linajes (grupos de alelos relacionados genéticamente) y la datación cronológica de los orígenes de cada linaje. Esto resulta sumamente interesante, ya que es posible dotar a los perfiles genéticos de un marco temporal y por lo tanto, contrastarlos con eventos históricos de manera más objetiva.

Una característica intrínseca del cromosoma Y es que sus portadores representan un tamaño efectivo poblacional reducido. Esto supone una ventaja añadida en las reconstrucciones filogenéticas. La explicación de esta ventaja reside en que, mientras que cada *locus* autosómico se encuentra por duplicado (una copia en cada cromosoma homólogo que compone el par), tanto en hombres como en mujeres, sin embargo cualquier *locus* del cromosoma Y se encuentra presente en copia única en el sexo masculino (XY) y ausente en el femenino (XX). Esto supone un tamaño poblacional de 1/4, en relación al tamaño que representan los cromosomas autosómicos. Este reducido tamaño poblacional del cromosoma Y conlleva que los marcadores en este cromosoma sean más susceptibles al efecto de la deriva genética. Dicho proceso, en ausencia de flujo génico significativo entre poblaciones, tiende a provocar la divergencia genética de las mismas. Por ello, el cromosoma Y es más susceptible de reflejar divergencias allí donde haya habido aislamiento genético.

La desventaja del cromosoma Y es sin embargo, su escasa variabilidad (Dorit et al. 1995), debido probablemente a la ausencia de recombinación. Así, un *locus* en principio selectivamente neutro y por lo tanto, apto *a priori*

para reconstruir más fielmente nuestra historia evolutiva, se puede ver afectado por procesos selectivos particulares (*selective sweep*, *background selection*) que afecten a otros *loci* de este cromosoma.

Diferentes autores han analizado la variabilidad genética del cromosoma Y en la población vasca. Poloni et al. (1997) estudiaron un total de 3.767 cromosomas pertenecientes a 58 poblaciones, para el sistema genético p49a,f/*TaqI*, que es un sistema razonablemente polimórfico, pero bastante complejo. Dichos autores encuentran una considerable diferenciación local de las poblaciones humanas, apareciendo éstas agrupadas por familias lingüísticas. En particular, la población vasca se sitúa en la agrupación que forman las poblaciones europeas, si bien, diferenciada dentro de este grupo. Conclusiones similares alcanzan Quintana-Murci et al. (1999a) y Semino et al. (1996), quienes encuentran un haplotipo característico de las poblaciones europeas, en el sistema p49a,f/*TaqI*, considerado ancestral. Dicho haplotipo denominado haplotipo 15, presenta su máxima frecuencia en la población vasca (Santachiara-Benerecetti et al. 1994; Semino et al. 1996; Lucotte & Hazout 1996; Lucotte & Loirat 99).

El cromosoma Y representativo, más probablemente, de las poblaciones proto-europeas, ha sido redefinido tras analizar 3 sistemas microsatélites en una amplia muestra de poblaciones europeas, de Oriente Próximo y del Norte de Africa, (Quintana-Murci et al. 1999b). Según los autores, dicho haplotipo compuesto (en el que quedaría reclasificado el anteriormente denominado haplotipo 15), caracteriza distintivamente a las poblaciones actuales del Oeste de Europa y presenta una frecuencia particularmente alta en la población vasca.

Por último, Malaspina et al. (1998) describen redes o networks (Bandelt et al. 1999), que recogen los caminos evolutivos posibles que relacionan unos haplotipos con otros mediante pasos o mutaciones, que se van produciendo a lo largo de la evolución de los linajes. La mayor parte de los 223 haplotipos diferentes que se identifican tras analizar 908 individuos masculinos (de Europa, Norte de Africa y Oriente Próximo) se recogen en dos networks principales: red 1.1 (definida por YAP - y *HindIII* +) y red 3.1 (YAP - y *HindIII* -). Los resultados poblacionales, descritos en términos de componentes principales (técnica de análisis multivariante asimismo empleada para generar los mapas sintéticos), indican que el primer eje principal (que recoge el 29.6% de la varianza total de los datos), presenta una gran correlación con la red 3.1, la cual presenta frecuencias elevadas en población vasca, lo que lleva a estos autores a proponer un origen pre-neolítico de esta red. El segundo componente principal recoge un 23.6% de la varianza y presenta correlación con la red 1.1. Superhaplotipos de esta red alcanzan las frecuencias más bajas en población vasca. En conclusión, los dos primeros ejes principales parecen reflejar de nuevo la existencia de un componente pre-neolítico más marcado en la población vasca.

2.3. ADN mitocondrial

El ADN de las células humanas está contenido mayoritariamente en el núcleo. Sólomente un 0.5% es ADN extranuclear y se halla en unos orgánulos citoplasmáticos denominados mitocondrias, que son las encargadas de producir la energía que la célula necesita. El ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula circular de unos 16,5 kb, presente en varias copias por mitocondria, lo que implica la existencia de varios miles de copias de esta molécula en cada célula.

Tres son las características más importantes del ADNmt, que le hacen un marcador útil de la historia evolutiva de las poblaciones humanas:

1) La secuencia de ADNmt presenta una alta tasa de mutación substitucional (cambio de un nucleótido por otro), en particular la región no codificante (bucle-D o región control) que tiene una tasa de mutación dos órdenes de magnitud superior a la media de las secuencias de ADN nuclear. Esto convierte al ADNmt en una molécula altamente polimórfica y por tanto especialmente útil para estudiar procesos evolutivos recientes. Sin embargo, las altas tasas de mutación pueden producir mutaciones recurrentes (homoplasias). Por otro lado, parece existir una gran heterogeneidad, en cuanto al valor de esta tasa, en las diferentes posiciones de la molécula de ADNmt. Dichos fenómenos pueden distorsionar la estimación de tiempos de divergencia así como la reconstrucción de las relaciones filogenéticas entre los distintos linajes mitocondriales.

2) El ADNmt se hereda exclusivamente por vía materna. Aunque existen mitocondrias en las células germinales masculinas, sin embargo la cabeza del espermatozoide, que es la única porción que penetra dentro del óvulo femenino, carece de ellas. Por ello, todas las mitocondrias del embrión tienen un origen materno. Esta característica resulta muy útil, de forma que el análisis de la variabilidad del ADNmt puede poner de manifiesto el aporte específicamente femenino a los movimientos demográficos de la población (así como, complementariamente, era posible identificar el aporte masculino mediante el estudio de la variabilidad del cromosoma Y). Al igual que en el caso del cromosoma Y, la transmisión exclusivamente materna del ADNmt determina que su tamaño efectivo poblacional sea 1/4 del de los *loci* nucleares autosómicos.

3) El ADNmt se caracteriza por ser, en términos efectivos, no recombinante. Debido a ello, todas las partes de una molécula tienen la misma historia evolutiva y es posible por tanto determinar y analizar haplotipos (o linajes), principalmente de secuencia. El análisis de haplotipos presenta la ventaja adicional de poder reconstruir las relaciones filogenéticas o genealogía de los diferentes haplotipos, lo que resulta mucho más informativo que el mero análisis de frecuencias alélicas.

Sin embargo, la ausencia de recombinación del ADNmt nos obliga a considerar a la molécula de ADNmt como un único *locus*, por lo que hay que tener en cuenta que la historia evolutiva de un único *locus* no representa fielmente la historia evolutiva del genoma de una población, al igual que la historia de un individuo no refleja la de toda la población. Por otra parte, en la molécula de ADNmt también existen genes y por lo tanto cualquier efecto de la selección natural sobre estos genes afectará por ligamiento, a los patrones de polimorfismo en las regiones no codificantes, que son selectivamente neutras. Estos factores, aconsejan usar con cautela los datos del ADNmt a la hora de inferir hipótesis antropológicas.

A pesar de la confianza depositada en la potencialidad del ADNmt para analizar la historia evolutiva de las poblaciones europeas, los primeros trabajos han sido poco resolutivos, ya que lejos de poner de manifiesto las posibles características particulares de sus historias evolutivas, se ha encontrado una gran homogeneidad en los perfiles de variabilidad mitocondrial de estas poblaciones (Comas et al. 1997; Pult et al. 1994; Sajantila et al. 1995). Este resultado se ha explicado en función de un origen reciente de las poblaciones europeas en su conjunto, así como por la existencia de una alta tasa migratoria entre las mismas, mayor que en otros continentes, lo que ha homogenizado su composición mitocondrial. En el caso particular de la población vasca, el análisis de secuencias del ADNmt no revela la distinción mostrada por los marcadores clásicos (Bertranpetit et al. 1995). Para explicar su baja variabilidad, en comparación con otras poblaciones, estos autores han propuesto un origen más reciente de la población vasca a partir de unos pocos y muy relacionados linajes mitocondriales. Si bien la muestra analizada en este caso está compuesta únicamente con 45 individuos provenientes de una región de Gipuzkoa.

El trabajo posterior de Côrte-Real et al. (1996) incluye individuos de Bizkaia y Araba y analiza asimismo otras poblaciones de la Península Ibérica, de Europa y del Norte de África. En dicho trabajo se realiza un análisis filogenético mediante networks mitocondriales y revela que los niveles de diversidad mitocondrial en la población vasca son menores, no sólo a los del resto de las poblaciones de la Península Ibérica analizadas, sino a los de otras poblaciones europeas. Ello se debe principalmente a la presencia de linajes del denominado Grupo 1, los cuales presentan una alta frecuencia en la muestra de Araba. Este hecho a su vez, lleva a los autores a sugerir cierto grado de heterogeneidad poblacional interna. Adicionalmente, se indica que una rama mitocondrial Norte africana, beréber, podría tener cierta presencia en la Península Ibérica (alrededor de un 10%), pero ésta no se observa en la población vasca. Este estudio de ADNmt pone de manifiesto que la mayor parte de los linajes de Iberia se asemejan a los de Europa Central y del Norte. Sin embargo, los linajes asociados a la expansión de las poblaciones

neolíticas de Oriente Próximo, presentan una frecuencia reducida en la Península Ibérica y particularmente en la población vasca.

Resultados similares a los de Côrte-Real et al. (1996) son alcanzados por Richards et al. (1996), quienes realizan asimismo un planteamiento filogenético de las secuencias de ADNmt, mediante el análisis de networks. Como en los trabajos previos, estos autores encuentran que la población vasca es la única población europea consistentemente distintiva, presentando nuevamente los valores de diversidad intrapoblacional más bajos.

Por otro lado, el análisis filogenético empleado por Richards et al. (1996), permite establecer una antigüedad para los diferentes linajes mitocondriales, llegando a la conclusión de que la mayoría de los ADNmt europeos descenderían de las poblaciones del *Homo sapiens* "anatómicamente moderno", que se asentaron en Europa en el Paleolítico Superior (hace unos 40.000 años). Este resultado choca con la hipótesis tradicional (Ammerman & Cavalli-Sforza 1984) según el cual, el evento demográfico que tuvo más impacto en las poblaciones europeas, fue la difusión de la economía de producción (agricultura y ganadería) desde su foco de origen, en el Próximo Oriente, durante el Neolítico hace unos 10.000 años.

Según Richards et al. (1996), la influencia demográfica de las poblaciones neolíticas alóctonas sobre los europeos actuales, parece ser relativamente escasa y propugna un modelo de colonización pionera y transferencia tecnológica, más que un reemplazamiento poblacional. En particular para la población vasca, se plantea que su peculiaridad genética respecto a otras, no sería el resultado de ser la única (o una de las pocas) población europea descendiente de grupos pre-neolíticos, ya que, según estos autores, la mayoría de las poblaciones actuales europeas poseen un componente genético mitocondrial mayoritariamente pre-neolítico. Más bien lo que distinguiría a la población vasca es un largo periodo de aislamiento (genético) y deriva genética que habrían acentuado las diferencias en cuanto a las frecuencias de ciertos genes o alelos, con respecto al resto de las poblaciones europeas.

Además de las aludidas expansiones paleolítica y neolítica, otros autores han propuesto la existencia de un movimiento poblacional a finales del Paleolítico Superior, hace 10.000-15.000 B.P, desde el Sudoeste de Europa, expansión que explicaría el origen y distribución de uno de los linajes del ADNmt, el denominado haplogrupo V (Torroni et al. 1998). Se propone un origen para este linaje mitocondrial, en el área que incluye al actual País Vasco, encontrando en esta población las frecuencias más altas, así como una considerable diversidad haplotípica. En contraste, dicho haplogrupo se encontraría ausente en las poblaciones del sur y este de Europa y del Próximo Oriente.

3. ADN FÓSIL

Creemos que una de las aportaciones más relevante y novedosa en el campo del estudio de la diversidad genética humana y de su evolución, constituye la posibilidad de indagar en la composición genética de las poblaciones del pasado a partir de la recuperación de ADN de restos esqueléticos. Este constituye un nuevo campo de estudio, el del ADN antiguo. En este ámbito se analiza principalmente la variabilidad del ADNmt, dado que la existencia de varios miles de copias de la molécula de ADNmt por célula, posibilita su recuperación y análisis a partir de restos humanos antiguos. Ello nos ofrece la inmensa ventaja de poder contrastar las hipótesis antropogenéticas inferidas a partir de los datos de las poblaciones actuales, con los perfiles de variabilidad genética obtenidos de manera directa a partir de las poblaciones del pasado

Si bien el campo del ADN antiguo (ADNa) es considerablemente laborioso, debido al extremo cuidado con que hay que procesar las muestras para evitar contaminaciones con ADN exógeno moderno y garantizar así la fiabilidad de los resultados, está empezando a proporcionar información de extraordinaria relevancia antropológica. El ejemplo más significativo ha sido el clonaje y la secuenciación de ADNmt de un fósil neandertal (Kriings et al. 1997) de unos 40.000 años de antigüedad. En este campo, y en lo que respecta al estudio de la historia evolutiva de la población vasca, queremos destacar el trabajo de Izagirre y de la Rúa (1999), en el que se ha estudiado la variabilidad en el ADNmt de 121 individuos prehistóricos. Dicho ADNmt se obtuvo a partir de piezas dentales recuperadas en 4 yacimientos prehistóricos del País Vasco, cuya antigüedad oscila entre 3.000 y 5.000 años. Uno de los resultados más interesantes de este trabajo, fue detectar la ausencia del haplogrupo V en todas las muestras analizadas, resultado que permitió discutir a las autoras la hipótesis que Torroni et al. (1998) plantearon sobre el origen y expansión de este haplogrupo mitocondrial, basándose exclusivamente en datos obtenidos a partir de poblaciones actuales.

En la actualidad, nuestro equipo se encuentra analizando polimorfismos de ADN de yacimientos prehistóricos e históricos adicionales, localizados en el País Vasco, con objeto de obtener una perspectiva más amplia, tanto geográfica como temporalmente, de la variabilidad genética de las poblaciones asentadas en este territorio.

Este trabajo sobre ADNa, resalta la utilidad del análisis directo del ADN proveniente de muestras antiguas como una herramienta inestimable de examen y contraste de hipótesis, y destaca su gran potencial para establecer de manera directa nuestros lazos con el pasado y esclarecer así la historia evolutiva de las poblaciones humanas.

4. CONCLUSIÓN

Actualmente se acepta de forma mayoritaria que nuestra especie, el *Homo sapiens* anatómicamente moderno, surge en Africa hace aproximadamente 100.000 años y coloniza Europa hace unos 40.000 (Stringer & Andrews 1988; Mellars 1998). Nuestra especie no fue la primera en asentarse en este territorio sino que parece haber reemplazado a los neandertales, que habitaban Europa desde miles de años atrás. No es de extrañar pues la homogeneidad genética que caracteriza a las poblaciones europeas: 40.000 años es evolutivamente un corto espacio de tiempo para la generación de nuevos linajes alélicos, que de producirse en condiciones de aislamiento genético, podrían llegar a ser específicos poblacionales. Tan sólo en los sistemas que presentan una mayor tasa de mutación (minisatélite MS205, Región Control del ADNmt) es posible, aparentemente, llegar a encontrar dichos linajes, pero generalmente no con altas frecuencias. La mayor parte de nuestro genoma refleja pues este origen humano reciente, este antecesor común reciente.

Sin embargo, las frecuencias de los linajes compartidos (tras considerar la genealogía de los mismos) pueden presentar diferencias entre las poblaciones como resultado de procesos demográficos diferenciales entre los distintos grupos humanos. Uno de los procesos que potencialmente pudo jugar un papel más relevante en este sentido es la expansión neolítica. El desarrollo de la agricultura permitió un mayor tamaño poblacional; la consiguiente presión demográfica fue uno de los factores que probablemente impulsaron la expansión de dichas poblaciones, no sólo hacia Europa sino también hacia otros continentes.

Actualmente existe un caldeado debate (Cavalli-Sforza & Minch 1997 Richards et al. 1997) en cuanto a si la difusión de la cultura neolítica, iniciada hace unos 10.000 años, implicó una expansión démica (fueron los humanos los que se desplazaron en masa, llevando consigo su cultura y reemplazando o asimilando las poblaciones previamente asentadas en el resto de Europa) o si por el contrario se trató simplemente de una expansión cultural (unos pocos pioneros se desplazan, pero logran transmitir e implantar exitosamente su cultura agrícola-ganadera). La importancia de uno u otro modelo radica en que la composición genética esperada de las actuales poblaciones europeas, principalmente su perfil de frecuencias alélicas, variará dependiendo de cuál de las dos hipótesis sea la más adecuada. Un reemplazamiento poblacional asociado a la expansión neolítica implica que las poblaciones europeas actuales reflejan de manera significativa el componente genético de estas poblaciones neolíticas en expansión. Alternativamente, la segunda hipótesis predice que la composición genética de las poblaciones europeas actuales se asemejará a la de las poblaciones que habitaban

Europa antes del Neolítico. Los análisis de ADNmt parecen apoyar esta última posibilidad.

Los datos de ADN generados en la última década, principalmente los referentes a la variación del ADNmt, han polarizado el debate sobre el origen de la diversidad genética actual. Estos sugieren que la contribución del Neolítico al pool génico europeo ha sido sobreestimada en los estudios de los polimorfismos genéticos clásicos, proponiendo algunos autores que la estructura genética de la población europea actual reflejaría la primera colonización paleolítica del continente (Richards et al. 1997).

En referencia a la población vasca en particular, los trabajos publicados parecen indicar, con independencia del modelo de expansión neolítica acontecido en Europa, un cierto grado de aislamiento que ha permitido la conservación de linajes alélicos considerados pre-neolíticos europeos. Este aislamiento genético hay que entenderlo como un evento ocurrido en tiempos prehistóricos, posiblemente debido a las ventajas del ecosistema en que se enclava el País Vasco y otras áreas de Europa atlántica (de la Rúa 1995) y no implica, sin embargo, una ausencia de interacción con el resto de las poblaciones. En este sentido, el trabajo de Hurler et al. (1999) sobre el cromosoma Y, proporciona indicios de la existencia de flujo génico, en principio específico masculino, entre las poblaciones del Pirineo occidental y oriental, hace al menos 2.000-3.000 años.

La aportación de los polimorfismos de ADN en esta investigación ha sido múltiple. Por un lado, la posibilidad de analizar la filogenia de los linajes alélicos -lo que no era posible abordar con los marcadores clásicos- ha permitido la identificación y la datación de procesos demográficos importantes en la historia de las poblaciones. Así, el análisis de algunos polimorfismos minisatélites han puesto de manifiesto la existencia en la población vasca, de algunos alelos cuya edad estimada precede al Neolítico. Asimismo, en el cromosoma Y se ha definido un haplotipo ancestral, pre-neolítico, representativo de las poblaciones proto-europeas, que presenta una frecuencia particularmente alta en la vascos.

Por otra parte, la posibilidad de recuperar y analizar ADN a partir de restos humanos fósiles, ha abierto una ventana al pasado que posibilita la obtención de información antropogenética directa sobre las poblaciones preterritas. El desarrollo de nuevos marcadores con un tempo evolutivo rápido, pero que permitan una reconstrucción filogenética clara y ordenada, en combinación con nuevas herramientas de análisis matemático que desarrollen modelos alternativos (coalescente; Donnelly & Tavaré 1995), permitirán obtener una visión más definida. Nuestro genoma encierra la memoria de nuestra historia evolutiva. Los recuerdos son todavía pocos y confusos; recuperarlos sigue siendo un excitante tema de investigación.

5. REFERENCIAS

- ALONSO S. & ARMOUR J.A.L. (1998) MS205 minisatellite diversity in basques: Evidence for a pre-Neolithic component. *Genome Res.* 8: 1289-1298.
- AMMERMANN A.J. & CAVALLI-SFORZA L.L. (1984) *The Neolithic Transition and the Genetics of Populations in Europe*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- ARMOUR J.A.L., HARRIS P.C. & JEFFREYS A.J. (1993) Allelic diversity at minisatellite MS205 (D16S309): evidence for polarized variability. *Hum Mol Genet.* 2: 1137-1145.
- BANDELT H.J., FOSTER P & ROHL A. (1999) Median-joining networks for inferring intra-specific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37-48.
- BARBUJANI G. (2000) Geographic patterns: How to identify them and why. *Hum. Biol.* 72: 133-153.
- BERTRANPETIT J. & CAVALLI-SFORZA L.L. (1991). A genetic reconstruction of the history of the population of the Iberian Peninsula. *Ann. Hum. Genet.* 55: 51-67
- BERTRANPETIT J., SALA J., CALAFELL F., UNDERHILL P.A., MORAL P. & COMAS D. (1995) Human mitochondrial DNA variation and the origin of the Basques. *Ann. Hum. Genet.* 59: 63-81
- BOSCH-GIMPERA A. (1943) El problema de los orígenes vascos. *Eusko-Jakintza* 3, 39
- CALAFELL F. & BERTRANPETIT J. (1994). Principal component analysis of gene frequencies and the origin of Basques. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 93: 201-215
- CALDERÓN R., VIDALES C., PEÑA J.L. PÉREZ-MIRANDA A. & DOGOUJON J.M. (1998) Immunoglobulin allotypes (GM and KM) in Basques from Spain: approach to the origin of the Basque population. *Hum. Biol.* 70: 667-698.
- CAVALLI-SFORZA L.L. & MINCH E. (1997) Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet.*, 61: 247-251
- CAVALLI-SFORZA L.L. (1988) The Basque population and ancient migrations in Europe. *Munibe (Antropología y Arqueología)*, Suplemento nº 6, 129-137
- CAVALLI-SFORZA L.L., MENOZZI P. & PIAZZA A. (1994) The history and geography of human genes. Princeton University Press. Princeton.
- COMAS D., CALAFELL F., MATEU E., PÉREZ-LEZAUN A., BOSCH E. & BERTRANPETIT J. (1997) Mitochondrial DNA variation and the origin of the europeans. *Hum. Genet.* 99: 443-449.
- CÔRTE-REAL H.B.S.M., MACAULAY V.A., RICHARDS M.B., HARITI G., ISSAC M.S., CAMBON-THOMSEN A., PAPIHA S. et al. (1996). Genetic diversity in the Iberian Peninsula determined from mitochondrial sequence analysis. *Ann. Hum. Genet.* 60: 331-350
- CHIKHI L., DESTRO-BISOL G., BERTORELLE G., PASCALI V. & BARBUJANI G. (1998). Clines of nuclear DNA markers suggest a largely Neolithic ancestry of the European gene pool. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 9053-9058.

- DONNELLY P & TAVARÉ S. (1995) Coalescents and genealogical structure under neutrality. *Ann. Rev. Genet.* 29: 401-421.
- DORIT R.L., AKASHI H. & GILBERT W. (1995) Absence of polymorphism at the ZFY locus on the human Y chromosome. *Science* 268: 1183-1185.
- DUNHAM I., SHIMIZU N., ROE B.A., CHISSOE S. et al. (1999) The DNA sequence of human chromosome 22. *Nature* 402: 489-495
- GOLDSTEIN D. B., & POLLOCK D. D. (1997) Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity* 88: 335-342.
- HATTORI M., FUJIYAMA A., TAYLOR T.D., WATANABE H., et al. (2000) The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 405: 311-319.
- HURLES M.E., VEITIA R., ARROYO E., ARMENTEROS M. et al. (1999) Recent male-mediated gene flow over a linguistic barrier in Iberia, suggested by analysis of a Y-chromosomal DNA polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 65: 1437-1448.
- IRIONDO M., BARBERO M.C., IZAGIRRE N. & MANZANO C. (1997) Data on six short-tandem repeat polymorphisms in an autochthonous basque population. *Human Heredity* 47: 131-137.
- IZAGIRRE N. & DE LA RUA C. (1999) A mtDNA analysis in ancient Basque populations: implications for haplogroup V as a marker for a major Paleolithic expansion from Southwestern Europe. *Am. J. Hum. Genet.* 65: 199-207.
- KRINGS M., STONE A., SCHMITZ R.W., KRAINIZ H., STONEKING M., PÄÄBO S. (1997) Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90: 19-30
- LEWONTIN R. C. (1972) The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.* 6: 381-398.
- LUCOTTE G. & HAZOUT S. (1996) Y-chromosome DNA haplotypes in Basques. *J. Mol. Evol.* 42: 472-475.
- LUCOTTE G. & LOIRAT F. (1999) Y-chromosome DNA haplotype 15 in Europe. *Hum. Biol.* 71: 431-437.
- MALASPINA P, CRUCIANI F, CIMINELLI B.M., TERRENATO L. et al. (1998) Network analyses of Y-chromosome types in Europe, Northern Africa and western Asia reveal specific patterns of geographic distribution. *Am. J. Hum. Genet.* 63: 847-860.
- MELLARS PA. (1998) The Upper paleolithic revolution. En: *Prehistoric Europe. An illustrated history*, pp. 42-78 (ed. B. Cunliffe), Oxford University Press, Oxford, UK.
- MENOZZI P, PIAZZA A., CAVALLI-SFORZA L.L. (1978) Synthetic maps of human gene frequencies in Europe. *Science*, 201: 786-792
- MOUNTAIN J. L. & CAVALLI-SFORZA L. L. (1997) Multilocus genotypes, a tree of individuals, and human evolutionary history. *Am. J. Hum. Genet.* 61: 705-718.
- MOURANT A. E. (1947) The blood groups of the Basques. *Nature* 160: 505-506
- PÉREZ-LEZAUN A., CALAFELL F., MATEU E., COMAS D., RUÍZ-PACHECO R & BERTRAN-PETIT J. (1997) Microsatellite variation and the differentiation of modern humans. *Hum. Genet.* 99: 1-7.

- PIAZZA A. (1993) Who are the Europeans? *Science* 260: 1767-1768
- PIAZZA A., CAPPELLO N., OLIVETTI E. & RENDINE S. (1988) The basques in Europe: a genetic analysis. *Munibe (Antropología y Arqueología)* Suplemento nº 6: 169-177
- POLONI E. S., SEMINO O., PASSARINO G., SANTACHIARA-BENERECETTI A. S., DUPANLUP I., LANGANEY A. & EXCOFFIER L. (1997) Human genetic affinities for Y-chromosome P49a,f/*TaqI* haplotypes show strong correspondence to linguistics. *Am. J. Hum. Genet.* 61: 1015-1035.
- PULT I., SAJANTILA J., SIMANAINAN O., GEORGIEV W., SCHAFFNER W., PÄÄBO S. (1994) Mitochondrial DNA sequences from Switzerland reveal striking homogeneity of European populations. *Biol. Chem Hoppe-Seyler*, 375: 837-840
- QUINTANA-MURCI L., SEMINO O., POLONI E. S., LIU A., et al. (1999a) Y-chromosome specific YCAII, DYS19 and YAP polymorphisms in human populations: a comparative study. *Ann. Hum. Genet.* 63: 153-166.
- QUINTANA-MURCI L. SEMINO O., MINCH E., PASSARINO G., BREGA A. & SANTACHIARA-BENERECETTI A. S. (1999b) Further characteristics of proto-European Y chromosomes. *Eur. J. Hum. Genet.* 7: 603-608.
- RENDINE S., PIAZZA A., MENOZI P. & CAVALLI-SFORZA L. L. (1999) A problem with synthetic maps: reply to Sokal et al. *Human Biology* 71: 15-25.
- RICHARDS M., CÔRTE-REAL H., FORSTER P., MACAULAY V., WILKINSON-HERBOTS H., DEMAINE A., PAPIHA S., HEDGES R., BANDELT H.-J., SYKES B. (1996). Paleolithic and Neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *Am. J. Hum. Genet.*, 59: 185-203
- RICHARDS M., MACAULAY V., SYKES B., PETTIT P., HEDGES R., FOSTER P. AND BANDELT H.J. (1997) Reply to Cavalli-Sforza and Minch. *Am. J. Hum. Genet.* 61: 251-254.
- RUA de la C. (1995) La Historia del poblamiento del País Vasco desde una perspectiva antropológica. En Bertranpetit & Vives (eds.) *Muntanyes i Població. El passat dels Pirineus des d'una perspectiva multidisciplinària*. Govern d'Andorra.
- SAJANTILA A., LAHERMO P., ANTTINEN T., LUKKA M., SISTONEN P., SAVONTAUS M.J., AULA P., BECKMAN L., TRANEBJAERG L., GEDDE-DAHL T., ISSEL-TARVER L., DI RIENZO A., PÄÄBO S. (1995) Genes and languages in Europe: an analysis of mitochondrial lineages. *Genome Res.* 5: 42-52
- SANTACHIARA-BENERECETTI A.S., SEMINO O., PASSARINO G., BERTRANPETIT J. & FELLOUS M. (1994) The genetic peculiarity of the basques shown by some Y-specific polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 55: A164.
- SEMINO O., PASSARINO G., BREGA A., FELLOUS M. & SANTACHIARA-BENERECETTI A.S. (1996). A view of the Neolithic demic diffusion in Europe through two Y chromosome-specific markers. *Am. J. Hum. Genet.* 59: 964-968.
- SOKAL R. R., ODEN N. L., & THOMSON B. A. (1999a) A problem with synthetic maps. *Hum. Biol.* 71: 1-13
- SOKAL R. R., ODEN N. L., & THOMSON B. A. (1999b). Problems with synthetic maps remain: reply to Rendine et al. *Hum. Biol.* 71: 447-453

STRINGER CB & ANDREWS P (1988). Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans. *Science* 239: 1263-1268.

TORRONI A., BANDELT H.-J., D'URBANO L., LAHERMO P, MORAL P, SELLITTO D., RENGO C., FOSTER P, SAVONTAUS M.-L., BONNE-TAMIR B., SCOZZARI R. (1998). MtDNA analysis reveals a major late Palaeolithic population expansion from southwestern to northeastern Europe. *Am. J. Hum. Genet.* 62: 1137-1152.