

RECONSTRUCCIÓN BIOLÓGICA DE LAS POBLACIONES HUMANAS DEL PASADO: NUEVAS PERSPECTIVAS

C. DE LA RÚA*

RESUMEN: Se exponen los principales métodos que en la actualidad pueden utilizarse para la reconstrucción de la estructura y dinámica de las poblaciones humanas del pasado. Por un lado, los estudios paleonutricionales basados en los análisis de elementos traza y de isótopos estables del Carbono y Nitrógeno; y por otro la determinación de grupos sanguíneos (ABO) y la extracción y caracterización de las secuencias de DNA a partir de tejido óseo antiguo. Se expone la problemática que plantean estos métodos (diagénesis, contaminación y degradación) y su utilidad en la reconstrucción biológica de las poblaciones humanas del pasado.

SUMMARY: The most important methods for the reconstruction of the structure and dynamics of past human populations have been explained. The dosage of trace elements and stable isotopes contribute to the palaeonutritional reconstruction. On the other hand, the determination of ABO blood groups and the characterization of DNA sequences from ancient human tissues are reliable methods for the biological reconstruction of the history of human populations. The main problems related to the analytical procedures and to the interpretation of the results (diagenesis, contamination and degradation) have been discussed.

La reconstrucción de la estructura y dinámica de las poblaciones humanas del pasado es uno de los retos más interesantes con el que se enfrenta en la actualidad la Antropología biológica (o física). Las perspectivas que ofrece la investigación en este campo, requieren la utilización de nuevos métodos que a grandes rasgos describiremos en las siguientes líneas. Por un lado trataremos de los análisis químicos del hueso (paleodietas) y por otro de análisis paleo- genéticos moleculares (Paleoserología y caracterización de secuencias de DNA procedente de tejidos humanos antiguos). Los principales problemas que presentan los análisis químicos e inmunológicos en tejido óseo, son la diagénesis, contaminación y degradación. El estado de conservación de diversas moléculas (antígenos, DNA, etc.) se ve afectado por condiciones ambientales que están fuera del control del investigador. Sin embargo un control adecuado de la metodología, puede reducir en gran medida las fuentes de error experimental y permitir establecer procedimientos dirigidos a reconocer las reacciones falsas.

* Departamento de Biología Animal y Genética. Facultad de Ciencias. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibersitatea. Bilbao.

La Paleoserología y los análisis químicos constituyen una parte esencial de la Biología esquelética en la actualidad, estando en pleno desarrollo los estudios del DNA. Su carácter destructivo, que podrá reducirse en el futuro con el perfeccionamiento de las técnicas, requiere una valoración previa de los costes y beneficios en términos de información adquirida por los análisis.

I. ANÁLISIS QUÍMICOS DEL HUESO: PALEONUTRICIÓN

I.A. ELEMENTOS TRAZA

Las fases más importantes de la evolución humana parece que se acompañan casi de forma constante con cambios en los sistemas de subsistencia y por lo tanto en los hábitos nutricios. Ello explica el creciente interés de la Antropología física por la paleonutrición, campo de estudio desarrollado en la década de los 80.

El hueso es un tejido complejo que contiene una fracción inorgánica, una matriz orgánica y agua, en proporción 17:20:15. El componente mineral, que representa aproximadamente el 70% del peso seco, está compuesto fundamentalmente por hidroxiapatito $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$. Los iones de diversos elementos pueden entrar en la estructura del hidroxiapatito por varias razones, bien en condiciones fisiológicas o patológicas; esto puede ocurrir durante la vida del organismo o por infiltración después de la muerte. En vida, los iones pueden sustituir al calcio o al fosfato en las moléculas del hidroxiapatito. Tras la muerte puede producirse tanto sustitución fónica como penetración de los iones en los espacios formados por la destrucción de la matriz orgánica durante la fosilización.

Se consideran «elementos traza» aquellos cuyo contenido es inferior al 0.01% de la masa total corporal, aunque en paleonutrición esta definición se amplía a elementos que exceden esta cantidad (Potasio, Sodio, Magnesio y Calcio). Los principales requisitos de un elemento para ser considerado como un buen indicador de paleodietas son: 1) una relación conocida con la dieta; 2) acceso al organismo únicamente por vía alimentaria; 3) no susceptible a cambios diagenéticos; 4) presencia en el tejido óseo en cantidades mensurables.

De entre los diversos elementos traza utilizados en los análisis químicos del hueso (estroncio, zinc, vanadio, hierro, manganeso), vamos a referirnos al estroncio, que fue el primer elemento investigado.

Estroncio. La distribución de este elemento (Sr^{++}) es amplia, encontrándose en el agua superficial a concentraciones diversas, dependiendo de la naturaleza de los suelos. Las plantas absorben iones Sr^{++} en la misma proporción en que están presentes en el suelo y el agua. En los vertebrados, el 99% del estroncio presente en

el cuerpo se acumula en el tejido óseo; en la osteogénesis este elemento es discriminado en favor del calcio.

Los herbívoros tienen menor relación Sr/Ca que las plantas que ingieren; los carnívoros u omnívoros tienen una relación Sr /Ca incluso menor, ya que asimilan carne -que tiene muy bajo contenido en estroncio- y además efectúan una selección metabólica posterior. En un ecosistema, el estroncio muestra una concentración decreciente de un nivel a otro de la cadena trófica. En consecuencia, un mayor contenido de estroncio en el hueso será indicativo de una dieta más vegetariana, mientras que bajos contenidos del mismo indicarían una dieta menos vegetariana o más carnívora. Sin embargo esta simplificada interpretación no tiene en cuenta la problemática referente a la variabilidad regional y a los cambios diagenéticos.

Factores que afectan al contenido de los elementos traza

1) *Variabilidad regional.* Estos elementos se presentan en cantidades diferentes en el suelo y agua de distintas regiones. Por tanto, las plantas y animales de lugares diferentes pueden contener cantidades distintas de elementos traza, de donde se deduce la imposibilidad de comparar muestras procedentes de diferentes asentamientos. Por razones semejantes, generalmente no se deben comparar muestras procedentes de distintos niveles de un mismo depósito, especialmente cuando las diferencias cronológicas son apreciables. Además los cambios climáticos y fitogeográficos y las variaciones del Ph del suelo pueden afectar a la solubilidad de los elementos y por tanto a la absorción por parte de las plantas.

2) *Cambios diagenéticos.* La diagénesis es el proceso de transformación (especialmente cambios físico-químicos) experimentado por los organismos tras la muerte, durante su permanencia en un depósito. Durante este proceso se alcanza un equilibrio físico-químico con el sedimento en que está enterrado el organismo. Por consiguiente, el esqueleto raramente mantiene su configuración química y mineralógica original. La diagénesis -fenómeno que transcurre a baja temperatura y presión- no requiere condiciones deposicionales excepcionales. Pueden ocurrir dos tipos principales de cambios: 1) Lavado, es decir, progresiva disolución y pérdida de un elemento dado. 2) Enriquecimiento: incremento progresivo en el contenido de un elemento que es absorbido del agua/suelo.

Procedimientos de control

1. *Análisis de la fauna.* El análisis de los huesos de animales (de dieta conocida) existente en el mismo nivel que los humanos, es fundamental para valorar la influencia de la diagenesis. Además ello permite establecer valores relativos (en lugar de absolutos) del contenido de los elementos traza.

2. *Análisis del suelo.* En muestras de suelo tomadas a distancia creciente de los huesos, puede establecerse un gradiente en el contenido de un elemento dado que permita aclarar la presencia de lavado o de enriquecimiento.

3. *Análisis de muestras secuenciales de hueso.* Estas muestras tomadas a diferente profundidad en un mismo hueso, muestran si el contenido de un determinado elemento es heterogéneo u homogéneo y por tanto si existe o no lavado o enriquecimiento.

4. *Elección de las muestra.* Es recomendable analizar diferentes muestras de un mismo individuo; además las comparaciones entre individuos debe establecerse en base al mismo elemento esquelético.

I.B. ISÓTOPOS ESTABLES

El Carbono y el Nitrógeno, los dos principales componentes de los seres vivos, pueden ofrecer información sobre los hábitos nutricios. Sus proporciones en el tejido óseo están bajo estricto control metabólico, sin embargo las relaciones isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ dependen también de la ingesta.

1) *Isótopos del Carbono*

La formación de carbonatos marinos a partir del CO_2 disuelto en el agua, está controlada por un equilibrio termodinámico que conduce a un enriquecimiento en los isótopos pesados del Carbono. Por consiguiente las algas, que asimilan el bicarbonato marino durante la fotosíntesis, mostrarán una mayor relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ que las plantas terrestres. Esta elevada relación interesa a toda la cadena alimentaria marina (Price et al. 1985).

Las plantas denominadas C3 (la mayoría de las del Norte de Europa y Norteamérica) tiene una menor relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ que las plantas denominadas C4 (maíz, trigo, sorgo, caña de azúcar), mostrando las C3 una relación isotópica intermedia entre los organismos marinos y los animales terrestres.

2) *Isótopos del Nitrógeno*

Cada especie animal o vegetal y cada individuo muestran una relación isotópica $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ característica, determinada por la ingesta y por las rutas metabólicas. Por ejemplo el nitrógeno atmosférico tiene una relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ más baja que la de los tejidos vivos. En las plantas terrestres capaces de asimilar el nitrógeno directamente de la atmósfera, tal como las legumbres, la relación isotópica es ligeramente más elevada que la del nitrógeno atmosférico. En las plantas terrestres que absorben el nitrógeno del suelo en forma de nitratos y en los animales que se alimentan de tales plantas, la relación $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ es más elevada que en las plantas terrestres que fijan directamente nitrógeno. En la mayoría de los organismos marinos, el enriquecimiento en ^{15}N es más marcado debido a la fijación del nitrógeno por las algas verde-azuladas, que discriminan positivamente los isótopos pesados.

Los isótopos del nitrógeno son muy adecuados para distinguir entre consumidores de comida marina o terrestre y entre la ingesta de legumbres y de otros vegetales. Los problemas surgen en el caso de dietas mixtas. Además hay que tener en cuenta que la interpretación de la relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ puede no ser simple, pudiendo influir también el tipo de habitat (Heaton et al., 1986; Ambrose & de Niro, 1986).

II. PALEOGENÉTICA MOLECULAR

Weiner & Price (1986) encontraron que los agregados cristalinos creaban compartimentos adecuados para la conservación de algunos componentes de la matriz orgánica. Por ello, los análisis inmonoquímicos pueden efectuarse en diversos sustratos: piel, músculo y hueso (humanos o de animales), manchas secas de sangre, cristales de orina, coprolitos y restos vegetales; pudiendo recuperarse moléculas tales como : proteínas (péptidos y aminoácidos), polisacáridos (oligo y monosacáridos), DNA nuclear y mitocondrial (oligonucleótidos y nucleótidos). Habitualmente se utilizan restos óseos y dentarios, siendo muy adecuados para estos análisis los tejidos excepcionalmente conservados (momias y enterramientos en pantanos y bajo condiciones de congelación e hipersalinidad).

II. A. PALEOSEROLOGÍA

Consiste en la caracterización bioquímica de las sustancias de grupos sanguíneos (antígenos eritrocitarios) presentes en el tejido óseo. El más estudiado es el sistema ABO y en menor medida el MN (Borgognini 1968, 1970; Borgognini Tarli et al. 1979, Borgognini Tarli & Paoli 1981; Paoli 1970, El principal problema que presentan estas técnicas es la contaminación bacteriana y la degradación. La descomposición de las sustancias de grupo sanguíneo por los enzimas sacarolíticos de algunas bacterias, puede llevar a la inactivación de los antígenos A, B y H (0). Además hay que considerar la

posible existencia de reacciones cruzadas con sustancias extrañas capaces de producir resultados positivos falsos. Tal es el caso de las reacciones cruzadas producidas por algunos microorganismos presentes en el suelo o en los tejidos animales y/o vegetales; asimismo las plantas y animales pueden contener

Estos problemas teóricos pueden detectarse al calcular las frecuencias génicas y al analizar cuidadosamente los resultados. Pueden asimismo superarse mediante el uso de controles analíticos directos e indirectos. Entre los primeros, resulta fundamental el análisis de varias muestras de un mismo sujeto mediante la misma técnica y asimismo el uso de diversas técnicas en paralelo para una muestra del mismo sujeto. Entre los diversos controles indirectos que pueden efectuarse, destacaremos los análisis paralelos de: muestras de grupo sanguíneo conocido, del suelo del enterramiento y de material inerte; además exámenes histológicos para evaluar el estado de conservación del material y cultivos tisulares para detectar la presencia de microorganismos activos, pueden contribuir a establecer un mayor control de los resultados.

Son diversos los resultados de índole técnico obtenidos, que permiten aceptar la validez del diagnóstico paleoserológico del sistema sanguíneo ABO en muestras de tejido óseo (Borgognini Tarli, 1992). El problema de la contaminación bacteriana y la degradación puede limitarse mediante una adecuada selección del material a analizar y el uso de controles directos e indirectos. Además existe una creciente evidencia de la conservación de moléculas orgánicas en el tejido óseo, cuya existencia no se sospechaba en la década anterior.

Aplicaciones antropológicas

Genética de poblaciones. Son varios los estudios realizados desde que Boyd (1959) sugiriera que los indios americanos portaban el grupo sanguíneo B cuando cruzaron el estrecho de Bering. También se ha sugerido (Hart et al., 1980) que los sujetos de grupo sanguíneo AB, al carecer de anticuerpos anti-A y anti-B en su plasma, podrían ser más vulnerables a las infecciones de ciertas bacterias (*Salmonella*, *Pneumococcus*) que también presentan antígenos AB. La selección natural, que actuaría en contra de estos sujetos, podría ser responsable de la baja frecuencia con que se presenta en la actualidad la combinación antigénica AB.

Actualmente se aconseja este tipo de estudios en series esqueléticas numéricamente amplias y con una buena documentación histórica y arqueológica, lo cual permitirá la reconstrucción biológica de la población (de su estructura genética) sobre la base de la estructura demográfica y socioeconómica de la misma (Sokal et al., 1987; Orúe, 1990).

Estructura familiar. Empleando los principios genéticos de la paternidad, Harrison et al. (1969) y Connolly et al. (1980) utilizaron los sistemas sanguíneos ABO y MN para ayudar a establecer relaciones de parentesco en la familia del faraón egipcio Tutankhamon. El principal problema en estos casos, radica en el escaso control de resultados positivos/negativos falsos y el hecho de que los sistemas ABO y MN no son suficientemente polimórficos para demostrar relaciones estrechas entre

poblaciones. A este respecto, el sistema de antígenos leucocitarios HLA —dado su elevado polimorfismo— sería mucho más adecuado para establecer relaciones de parentesco. Aunque hasta el presente, las técnicas serológicas no han permitido detectar estos antígenos en tejidos humanos

Los análisis familiares a nivel paleoserológico deben efectuarse en materiales procedentes de cementerios en los que existan evidencias de parentesco entre los enterrados. No obstante, el análisis del DNA provee una mayor sensibilidad.

Genética evolutiva. Es posible recuperar sustancias proteicas incluso en tejidos fosilizados. Un ejemplo extremo supone la experiencia de De Jong et al. (1974) que consiguieron demostrar la preservación de sustancias antigénicas en conchas fosilizadas de 70 millones de años de antigüedad, lo que les permitió establecer hipótesis sobre las relaciones evolutivas de los moluscos

II.B. ANÁLISIS DEL DNA EN TEJIDO OSEO ANTIGUO

Los estudios del genoma humano han experimentado un gran avance en los últimos años, gracias a la tecnología del DNA. El análisis de los polimorfismos de DNA constituye actualmente el método más resolutivo para la caracterización individual, de lo que se derivan múltiples aplicaciones entre otras, en el campo de la Biología de las poblaciones humanas. El estudio de los grupos humanos del pasado se ha encontrado hasta el momento, con grandes limitaciones metodológicas, por lo que los avances de la Biología molecular, referentes a la extracción e identificación de DNA en material óseo de diversa antigüedad (Hagelberg et al. 1989; Pääbo 1986,1989), posibilita dar respuesta a los múltiples interrogantes que plantean las relaciones biológicas de las poblaciones humanas.

Este tipo de análisis es de muy reciente aplicación en la biología forense y en la antropología. La primera referencia de la amplificación de DNA procedente de tejido óseo antiguo corresponde a Hagelberg et al. (1989), aunque su identificación en otro tipo de materiales (músculo desecado, piel, cerebro) ya se había efectuado en años precedentes (Higuchi & Wilson, 1984; Páábo 1985, Páábo et al. 1988), correspondiendo algunos casos a restos de vertebrados fósiles no humanos (équidos, marsupiales) (Arnemann et al. 1986; Páábo 1986, 1989). Posteriormente se ha conseguido amplificar DNA procedente de una especie vegetal de 17-20 millones de años de antigüedad, hallada en sedimentos lacustres (Golenberg et al., 1990).

El estudio del DNA en tejidos antiguos entraña gran dificultad, ya que antes de proceder a cualquier tipo de análisis es necesario extraer y purificar el DNA. Aunque la extracción de DNA de tejidos frescos puede realizarse mediante diversas técnicas bien establecidas (Maniatis et al. 1989), la extracción a partir de tejidos post mortem ofrece numerosas dificultades, principalmente debidas a la degradación y contaminación bacteriana que sufre la molécula de DNA con el paso del tiempo (Páábo, 1989). A pesar de ello, el grado de conservación del DNA es muy superior al de otras moléculas, tales como

Es previsible encontrar una gran variabilidad individual en cuanto al contenido del DNA, que puede atribuirse no sólo a la variabilidad habitualmente hallada en tejidos vivos, sino también a diferencias en el grado de preservación del DNA en el tejido óseo de los distintos individuos (Hagelberg et al. 1989; Mtnz. de Pancorbo et al. 1992). Ello indica la importancia de las condiciones del medio que rodea a los restos además de otros factores individuales (actividad de las nucleasas, patologías asociadas...), como elementos a tener en cuenta en la puesta a punto de esta metodología a nivel óseo (Mieszerski et al. 1989).

Contribución del análisis del DNA a la Antropología y la Arqueología

Aunque la tecnología del DNA aplicada a tejidos antiguos es de muy reciente descripción, su potencial contribución a la resolución de problemas arqueo-antropológicos, abre nuevas y hasta ahora impensables pautas de cara al estudio de la historia biológica de los grupos humanos.

Diagnóstico del sexo. Resulta posible la determinación del sexo de un individuo mediante la amplificación de las secuencias específicas del cromosoma Y, habiéndose publicado ya algunas consideraciones metodológicas a este respecto (Beroldingen, 1989; Hummel & Herrmann, 1991).

Este parámetro nos permitirá el conocimiento de aspectos evolutivos básicos de las poblaciones humanas, tales como: la distribución de sexos por grupos de edad, la relación edad-mortalidad según sexos y las relaciones de parentesco en determinados asentamientos, características que tienen una clara influencia en la fertilidad de los grupos humanos. Esta cuestión resulta de interés porque permite elaborar varias hipótesis, no sólo de carácter biológico (edad-mortalidad según sexos, capacidad reproductora de los grupos, evolución de la longevidad en función de los sexos, etc.) sino también socio-culturales, al

Relaciones familiares. La metodología desarrollada en el campo de la Medicina legal (Iten, 1989) tiene una aplicación directa en el análisis de las relaciones familiares en los grupos humanos del pasado. Este tipo de estudios puede efectuarse tanto en el DNA nuclear como en el DNA mitocondrial. En el primer caso se analizan: genes de sistemas altamente polimórficos —por ejemplo, el HLA (Antígenos Leucocitarios de Histocompatibilidad)— y micro-satélites (secuencias cortas de DNA altamente repetitivo que presentan poliformismo para su longitud). La utilización del DNA mitocondrial tiene la ventaja de encontrarse en mayores cantidades que el nuclear (gran número de mitocondrias/célula) y de no presentar prácticamente recombinación; sin embargo el hecho de ser de transmisión matrilineal y de carecer de variantes alélicas, disminuye su idoneidad para el establecimiento de relaciones entre parientes biológicos.

La preservación y recuperación del DNA genómico en restos esqueléticos, abre la posibilidad de afrontar el estudio de la consanguinidad existente entre los sujetos recuperados en un asentamiento arqueológico. Recientemente se han analizado diversos marcadores polimórficos, a fin de calcular el coeficiente de consanguinidad existente entre los individuos momificados procedentes de un

Enfermedades hereditarias. El análisis de DNA en tejido óseo antiguo abre nuevas perspectivas en los estudios epidemiológicos, permitiendo analizar la incidencia en el pasado de algunas mutaciones responsables de enfermedades de transmisión genética tales como la Fibrosis Quística y de otras con un posible patrón genético (por ejemplo, la Diabetes Mellitus). Aunque ello es teóricamente posible, supone una gran dificultad la pequeña cantidad de DNA nuclear que previsiblemente se conserva en materiales antiguos y la relativa

Los avances experimentados por la Biología molecular, permiten indagar en poblaciones antiguas sobre la evidencia genética a nivel del DNA, de algunas mutaciones causantes de enfermedades, por ejemplo la Beta-Talasemia (Faerman et al., 1992), patología muy extendida en las áreas donde la malaria es endémica. Se ha logrado detectar la existencia de diversas mutaciones en los genes de la Beta-globina de un sujeto de 7.000 años de antigüedad procedente

Genética de las poblaciones del pasado. El análisis de la distribución de las frecuencias génicas de algunos loci abre la posibilidad de elaborar una hipótesis sobre la evolución genética de estos genes. Esta hipótesis permitirá examinar los cambios de las frecuencias génicas que han tenido lugar a través de un número muy amplio de generaciones humanas, hecho que hasta ahora sólo ha sido posible estudiar utilizando aproximaciones a lo que ocurre en los microorganismos, en los animales de experimentación en el laboratorio (*Drosophila*) o mediante modelos de simulación por ordenador. Este planteamiento permite contestar a cuestiones fundamentales en la investigación de la evolución de las poblaciones humanas, relativas tanto a los movimientos poblaciones como a procesos microevolutivos. El análisis de diversos marcadores genéticos determinables tanto en las poblaciones actuales como en el tejido óseo de las poblaciones pretéritas, nos permitirá establecer las variaciones genéticas acontecidas a lo largo del tiempo y a partir de ello tratar de inferir datos sobre la influencia de los aportes de genes durante la historia de la población, en un enfoque multidisciplinar con la Arqueología, la Historia y la Lingüística.

El análisis del DNA mitocondrial ha sido una de las bases fundamentales para la elaboración de la hipótesis del origen africano del hombre moderno (Cann et al., 1987; Vigilant et al., 1991). Cann et al. publicaron datos sobre la variación en el mt-DNA de individuos de diferentes continentes, concluyendo que el antecesor común de todas las secuencias de mt-DNA —llamado «Eva mitocondrial»— probablemente vivió en Africa hace unos 200.000 años. Esta hipótesis ha despertado una gran controversia tanto entre los genetistas (Excoffier Langaney, 1989; Goldman (Barton, 1992) como entre los paleontólogos (Bráuer Smith, 1992). Asimismo se han publicado en estos últimos años numerosos trabajos sobre las relaciones genéticas entre diversas poblaciones mundiales, en base tanto al DNA mitocondrial como nuclear (Wainscoat et al., 1986; Ballinger et al., 1992).

Otras cuestiones arqueo-antropológicas (Borgognini Tarli, 1992): diagnóstico del sexo en animales, origen de las variedades salvajes de animales domésticos y/o plantas, movimientos de los animales domésticos y/o plantas, características de las plantas cultivadas con base genética conocida, relaciones taxonómicas y tasas evolutivas de taxa extinguidos (evolución molecular).

CONSIDERACIÓN FINAL

La reconstrucción de la estructura genética de las poblaciones humanas del pasado, se halla en la actualidad en una fase de enorme desarrollo, en la que se encuentra con diversas dificultades. En primer lugar, hay que tener en cuenta que los caracteres métricos y morfológicos, utilizados tradicionalmente por los antropólogos, están bajo control genético, pero sus mecanismos de herencia son complejos y en la mayoría de los casos desconocidos. Además hay que considerar la

existencia de un componente ambiental en su expresión fenotípica. Los rasgos esqueléticos no-métricos, aunque menos influidos por el ambiente, presentan también una base genética compleja e insuficientemente conocida.

La Paloserología, aunque presenta una controvertida problemática — superable en cierta medida con un adecuado control metodológico— provee una información genética, generalmente limitada a un único locus (ABO) y a tres alelos. En este sentido, la extracción y caracterización del DNA constituye un campo nuevo y prometedor, que podría permitirnos superar las limitaciones mencionadas anteriormente ya que aborda el análisis directo de los genes de los sujetos fósiles. En la actualidad la mayor dificultad a la que nos enfrentamos, se refiere a la contaminación (Brown & Brown, 1992).

La reconstrucción paleonutricional se basa en la aplicación del conocimiento de diversas disciplinas, por lo que la consideración de los problemas metodológicos que actualmente presenta, conduce necesariamente a una colaboración entre los antropólogos físicos e investigadores cualificados de estas disciplinas (por ejemplo, geoquímicos y bioquímicos). La enumeración de la problemática que subyace en la aplicación de estas nuevas metodologías, pretende constituir una reflexión que conduzca a una valoración crítica de los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

- AMBROSE SH--DE NIRO MJ (1986): Reconstruction of African human diet using bone collagen carbon and nitrogen isotope ratios, *Nature* 319: 321-324.
- ARNEMANN, J.—EPPLEN, JT—HERRMANN, B—SCHMIDTKE, J. (1986): Molecular cloning of DNA from a pre-Columbian Peruvian Indian mummy, *Mitt. Berliner Gesell. Anthr. Ethn. Urgesch* 7: 117-118.
- BALLINGER, SW-SCHURR, TG-TORRONI, A. GAN, YY--HODGE, JA-HASSAN, K-CHEN, KH—WALLACE, DC (1992): Southeast Asian Mitochondrial DNA analysis reveals Genetic continuity of Ancient Mongoloid Migrations, *Genetics* 130: 139-152.
- BERAUD-COLOMB, E.-TIERCY, JM-QUERAT, G. (1992): Human beta thalassemia gene detected in 70(X) year old fossil bones. 3rd Int. Congress on Human Palaeontology, Jerusalem.
- BEROLDINGEN VON, C.M. -SENSABAUGH, G.F. -BEROLDINGEN VON, L.A. -HIGUCHI, R. —ERLICH, H.A. (1989): Amplification of Y Chromosome-Specific sequences in Biological evidence, In: *Advances in Forensic Haemogenetics*, Polensky & Mayr (Eds), Springer-Verlag: 162-166.
- BORGOGNINI, S. (1970): Sulla determinazione dei gruppi sanguigni ABO in ossa umane antiche: studio metodologico ed applicativo, *Tesi di Perfezionamento (Ph. D. Thesis)*, Scuola Normale Superiore, Pisa.
- BORGOGNINI TARLI, S. (1979): Paleoserology. Introductory remarks. *General Bibliography, J.Hum. Evol.* 8: 709-710, 735-740.

- BORGOGNINI TARLI, S. (1992): Bone chemistry and immunology: state of the research problems and perspectives, 8th Congress European Anthropological Association, Madrid.
- BORGOGNINI TARLI, S. & PAOLI, G. (1981): Les groupes sanguins du système ABO á partir des tissus d'anciens Egyptiens, Bull. Mém. Soc. d'Anthrop. de Paris, Sér. XIII, 8: 297-305.
- BOYD, WC (1959): A possible example of the action of selection in human blood groups, J. Med. Educ. 34: 398-399.
- BRÁUER G & SMITH FH. (Eds.) (1992): Continuity or replacement: controversies in Homo sapiens evolution, Rotterdam: Balkema.
- BROWN, K.- BROWN, T. (1992): Amount of human DNA in old bones, Ancient DNA Newsletter 1, 18.
- CANN, R.-STONEKING, M.-WILSON, A.C. (1987): Mitochondrial DNA and human evolution, Nature 325: 31-36.
- CONNOLLY, RC-HARRISON, RG- ABDALLA, AB, and AHMED, S. (1980): An analysis of the interrelationships between pharaohs of the 18th dynasty, Masca J. 1 (6): 178-181 (Mummification Supplement).
- DEJONG E.W., WESTBROEK, P.-WESBROEK, JF and BRUNING, JW (1974): Preservation of antigenic properties of macromolecules over 70 Myr., Nature 252: 63-64.
- EXCOFFIER, L. & LANGANEY, A. (1989): Origin and differentiation of human mitochondrial DNA, Am. J. Hum. Gen. 44: 73-85.
- FAERMAN M.- FILON, D.- ORON, V.- OPPENHEIM, A.- SMITH, P. (1992): Sequence analysis of ancient human beta-globin genes, 3rd Int. Congress on Human Palaeontology, Jerusalem.
- FRANCALACCI, P.—TARLI, S.B. (1988): Multielementary analysis of trace elements and preliminary results on stable isotopes in two Italian prehistory site. Methodological aspects. In Grupe, G. & Hermann B (Eds.): Trace Elements in Environmental History, Heidelberg: Springer-Verlag: 41-52.
- GOLDMAN, N. & BARTON, N.H. (1992): Genetics and Geography, Nature 357: 440-441.
- GOLENBERG, E.M. -GIANNASI, DE -CLEGG, MT -SMILEY, CJ -DURBIN M. - HENDERSON, D.
—ZURAWSKI, G. (1990): Chloroplast DNA sequence from a Miocene Magnolia species, Nature 344: 656-658.
- HAGELBERG, E. & SYKES, B. -HEDGES, R. (1989): Ancient bone DNA amplified, Nature: 342, 485.
- HARRISON, RG -CONNOLLY, RC AND ABDALLA, A. (1969): Kinship of Smenkhkare and Tutankhamen affirmed by serological micromethod, Nature 224: 325-326.
- HART, GD -KVAS, I. -SOOTS, M. AND BADAWAY, G. (1980): Blood group testing of ancient material, Masca J. 1(5): 141-145.
- HEATON, THE -VOGEL, JC -CHEVALLARIE, G. -COLLET, G. (1986): Climatic influence on the isotopic composition of bone nitrogen, Nature 322: 822-823.
- HIGUCHI, R. —WILSON, A.C. (1984): Recovery of DNA from extinct species, Fed. Proc. 43; 1557.
- HUMMEL, S. & HERMANN, B (1991): Y chromosome-specific DNA amplified in ancient human bone, Naturwissenschaften 78: 266-267.
- ITEN, E. & PFLUGSHAUPT R. (1989): DNA Fingerprinting in Paternity analyses. In: Advances in Forensic Haemogenetics, Polensky & Mayr (Eds.), Springer Verlag: 136-139.
- MANIATIS, T.-FRISCH, E.F.-SAMBROOK, J. (1989): Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, N. York.
- MARTINEZ DE PANCORBO, M. -CASTRO, A. -ALONSO, S. -ORUE J. -GARCIA-ORAAD A. -ARIZTI, P. -TAMAYO G. -ETXEBERRIA F. -DE LA RUA, C. (1992): Extracción y caracterización del DNA procedente del hueso esponjoso reciente y de los siglos XVI y XVII, Munibe (Antrop.-Arkeol.), Supl. 8, San Sebastián: 209-212.

- MIESZERSKI, L. ET AL. (1989): Characterization of DNA extracted from dental pulp of teeth subjected to various environmental conditions, 15th Meet. Northeast. Assoc. Forensic Scientists, Albany, N.Y.
- ORUE, J.M. (1990): Reconstrucción biológica de la población inhumada en la Colegiata de Zenarruza (Vizcaya). Estudio Paleoserológico, Tesis Doctoral (inédita), Universidad del País Vasco /Euskal Herriko Unibersitatea.
- PÁABO, S. (1985): Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA, *Nature* 314: 644-645.
- (1986): Molecular genetic investigations of ancient human remains, *Cold Spring Harbor Symposia in Quantitative Biology*: 51, 441-446.
- (1989) Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning and enzymatic amplification, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 1939-1943.
- IDEM, (1990): Amplifying ancient DNA, In: «PCR Protocols and applications», Innis et al. (Eds.) Academic Press: 159-166.
- PÁABO, S.—GIFFORD, J.A. & WILSON, A.C. (1988): Mitochondrial DNA sequences from a 7000 year old brain, *Nuc. Ac. Res* 16: 9775-9787.
- PÁABO, S., HIGUCHI, R.G. & WILSON, A.C. (1989): Ancient DNA and the Polymerase Chain Reaction, *J. Biol. Chemistry* 264: 17, 9709-9712.
- PAOLI, G. (1970): Determinazione del gruppo sanguigno del sistema ABO in scheletri egiziani d'età dinastica. *Atti Società Toscana di Scienze Naturali, Serie B*, 77: 88-100.
- PAOLI, G. (1972): Further biochemical and immunological investigations on early Egyptian remains, *J. Hum. Evol.* 1: 457-466.
- PAOLI, G.—MALLEGGNI, F. —CECCHI, S. —PARENTI (1974): Rapporti quantitativi fra L-Fucosio, Nacetilesosamine e reazione IEA in estratti di ossa egiziane antiche, *Atti Società Toscana di Scienze Naturali, Serie B*, 81: 136-153.
- PRICE, TD—SCHOENINGER, MJ and ARMELAGOS, GJ (1985): Bone chemistry and past behavior: An overview, *J. Hum. Evol.* 14: 419-447.
- ROGAN, P.K. 1 SALVO, J.J.(1990): Study of nucleic acids isolated from ancient remains, *Yearb. of Phys. Anthropol.*, 33: 195-214.
- ROGAN, P.K. —SALVO, JS —ÁUFDERHEIDE, AC (1992): Kinship studies in ancient human populations, 3th Int. Congress on Human Palaeontology, Jerusalem.
- SOKAL, R.S.; LENGYYEL, I.A. —DERISH, PA —WOOTEN, MC—ODEN, NL (1987): Spatial autorrelation of ABO serotypes in Medieval cemeteries as an indicator of ethnic and familia! structure, *J. Archaeol. Sc.* 14: 615-633.
- VIGILANT, L. —STONEKING, M. —HARPENDING, H. —HAWKES, K. & WILSON, A.C. (1991): African Populations and the Evolution of Human Mitochondrial DNA, *Science* 253: 1503-1507.
- WAINSCOAT, JS —HILL, A. —BOYCE, A. FLINT, J. —HERNÁNDEZ, M. —THEIN, S. —OLD, J. —LYNCH, J. —FALUSI, A. —WEATHERALL, D. —CLEGG, J. (1986): Evolutionary relationships of human populations from an analysis of nuclear DNA polymorphisms, *Nature* 319: 491-493.
- WEINER S. & PRICE, P.A. (1986): Disaggregation of bone into crystals. *Calcified Tissue Int.* 39: 365-375.