

MARCO DE REFERENCIA

Estudios de la variabilidad del mtDNA en poblaciones humanas

Para caracterizar la variabilidad del mtDNA es necesario diferenciar los tipos mitocondriales, también llamados haplotipos y medir la magnitud de la diferencia o distancia genética que presentan. Para diferenciar los haplotipos, se han utilizado dos procedimientos distintos, el análisis con enzimas de restricción de todo el genoma y la secuenciación de fragmentos de la región de control. Los análisis con enzimas de restricción definen los tipos mitocondriales de acuerdo a la combinación de ausencia/presencia de sitios de restricción que presenten y pueden ser de baja (Giles et al. 1980; Merriwether et al. 1991) o de alta resolución (Cann y Wilson, 1983; Cann et al. 1984; Ballinger et al. 1991) dependiendo del número de enzimas utilizadas. La secuenciación del D-loop define los tipos mitocondriales por las diferencias que presenten en la secuencia, cada secuencia diferente representa un tipo mitocondrial (Vigilant et al. 1989).

De cualquier forma, las distancias genéticas entre los tipos mitocondriales pueden ser estimadas con métodos como el de Nei y Tajima (1983), con el que se obtiene una matriz de distancias a partir de las cuales es posible reconstruir las relaciones filogenéticas de los haplotipos, utilizando algoritmos como el UPGMA o el “Neighbor - Joining” de Saitou y Nei (1987). Alternativamente, es posible reconstruir directamente la filogenia con métodos de máxima parsimonia o de máxima verosimilitud, que a la vez proporcionan una estimación de las distancias genéticas entre los haplotipos.

Por otra parte, el análisis también se puede realizar a nivel de poblaciones, ya sea comparando las frecuencias que presenten de cada uno de los tipos encontrados (Wallace et al. 1985; Schurr et al. 1990; Torroni et al. 1996); utilizando algún índice de diversidad (Bertranpetit et al. 1995; Izagirre y de la Rúa, 1999); o reconstruyendo sus relaciones filogenéticas a partir de una matriz de distancias interpoblacional. El método de Nei y Miller (1990) permite obtener la distancia genética entre poblaciones comparando la diversidad que presentan los individuos dentro y entre las poblaciones analizadas; ya sea

con datos de restricción (Merriwether et al. 1991) o de secuencias (Bertranpetit et al. 1995; Francalacci et al. 1996). También es posible comparar las secuencias de distintas poblaciones mediante análisis discriminante, si se considera cada sitio de la secuencia como una variable y se codifican las sustituciones de nucleótidos de forma numérica (Francalacci et al. 1996).

Así mismo, tanto los datos de enzimas de restricción como los de secuencia de DNA pueden ser usados para obtener información sobre la historia de los eventos de la población, a través de la teoría de la coalescencia, que provee un marco para incorporar modelos paramétricos explícitos sobre la historia demográfica de la población (Slatkin y Hudson, 1991; Rogers y Harpending, 1992; Donnelly y Tavaré, 1995; Weiss y von Haeseler, 1998).

Todas estas aproximaciones se han utilizado para analizar la variabilidad del mtDNA de diversas poblaciones humanas y han permitido hacer inferencias que van desde el origen y edad del antecesor común de todo el mtDNA, hasta la historia demográfica y el modo de producción de poblaciones concretas. Particularmente, el estudio de las poblaciones europeas tiene el potencial de esclarecer temas como la resolución de los dos modelos de evolución del hombre moderno, a través de las inferencias sobre el poblamiento de Europa durante el Paleolítico y temas como el proceso de la neolitización.

Distancias genéticas y reconstrucción filogenética

Desde los primeros estudios con enzimas de restricción sobre la variabilidad del mtDNA en poblaciones humanas a nivel mundial, se observó que los haplotipos mitocondriales africanos presentaban una mayor diferencia entre sí, en comparación con la que presentaban los haplotipos de poblaciones no africanas (Johnson et al. 1983; Cann et al. 1987a). Posteriormente, esta observación fue confirmada a través del análisis de las secuencias del D-loop (Horai y Hayasaka, 1990; Vigilant et al. 1991). La gran diversidad que presentan las poblaciones africanas, ha sido invocada como evidencia del origen

africano reciente del hombre anatómicamente moderno (teoría “salida de África”), asumiendo que el grado de divergencia está en relación con la antigüedad de la población (Cann et al. 1987a; Merriwether et al. 1991; Vigilant et al. 1991).

No obstante, también se ha propuesto que esta elevada variabilidad se debe a que las poblaciones africanas presentan una tasa de mutación más rápida (Johnson et al. 1983); a que han tenido un mayor tamaño efectivo de población a largo plazo (Relethford, 1998); o a la existencia de cuellos de botella que han reducido la variabilidad en otras zonas geográficas (Jorde et al. 1998).

Por otra parte, los análisis filogenéticos basados en el principio de la parsimonia, mostraron que los haplotipos africanos eran más antiguos que los no africanos, indicando que el antecesor común más reciente de todo el mtDNA humano (la “Eva mitocondrial”) había existido en Africa hace ~200,000 años, dando soporte a la teoría “salida de África” (Cann et al. 1987a; Vigilant et al. 1991). Sin embargo, algunos autores han mostrado que los métodos de la parsimonia no fueron utilizados correctamente y otros han puesto en duda las estimaciones de las tasas de evolución empleadas, invalidando estas conclusiones (Darlu y Tassy, 1987; Saitou y Omoto, 1987; Spuhler, 1988; Excoffier y Langaney, 1989; Krüger y Vogel, 1989; Hedges et al. 1991; Maddison, 1991; Templeton, 1991; Gee, 1992; Goldman y Barton, 1992; Pesole et al. 1992; Templeton, 1993; 1994; Ayala, 1995). Además, algunos de ellos han reanalizado con otros métodos de reconstrucción filogenética las secuencias usadas originalmente, obteniendo resultados que no apoyan la teoría de la “salida de Africa”; como el utilizado por Pesole y col. (1992) basado en un proceso de Markov, el de Neighbor Joining usado por Hedges y col. (1991), o el de máxima verosimilitud usado por Templeton (1993). No obstante, otros investigadores han analizado diversas secuencias de mtDNA con métodos de máxima verosimilitud (Hasegawa y Horai, 1991), de máxima parsimonia (mejorado) (Penny et al. 1995) y con los métodos basados en distancias, UPGMA (Horai et al. 1995) y Neighbor-Joining (Bertranpetit et al. 1995; Zischler et al. 1995a), apoyando el origen africano reciente.

Sin embargo, es posible que la mayoría de los métodos utilizados no sean adecuados para el análisis de la variabilidad intraespecífica del mtDNA, ya que originalmente fueron diseñados para determinar las relaciones entre especies (Goldman y Barton, 1992; Bandelt et al. 1995). De acuerdo con Bandelt y col. (1995), estos métodos no son eficientes en la reconstrucción filogenética de los tipos mitocondriales, debido a la homoplasia, que se presenta cuando surgen mutaciones paralelas y retromutaciones y que pueden producir substituciones conflictivas, lo que al final ocasiona una pérdida de la resolución a medida que el análisis se aproxima al tiempo de coalescencia (Bandelt et al. 1995). De hecho, muchos métodos de reconstrucción filogenética basados en distancias, producen árboles dicotómicos, cuando las filogenias del mtDNA pueden ser en realidad policotómicas, debido por ejemplo, a la posibilidad de que surjan mutaciones paralelas en dos descendientes de un mismo linaje mitocondrial. Aunque estos eventos pueden ser detectados con métodos de máxima parsimonia, estos métodos producen una cantidad incontable de árboles igualmente parsimoniosos con topologías distintas, lo que a menudo se resuelve con la elección arbitraria de alguno de ellos.

En vista de estos problemas, Bandelt y colaboradores desarrollaron un método que presenta las relaciones entre las secuencias en forma de red, de manera que es posible visualizar todos los árboles de máxima parsimonia que se pueden deducir de un determinado grupo de datos; al que han denominado método de las redes medias (“median networks”). Esta aproximación, identifica las substituciones conflictivas, mostrándolas como puntos reticulares, lo que facilita su interpretación en términos de homoplasia, recombinación, errores de secuenciación o superimposición de secuencias. Además, incluye la información de la frecuencia observada de los haplotipos. En conjunto, todas estas características proveen criterios objetivos que facilitan la elección de los árboles más plausibles, reduciendo o simplificando la red (Bandelt et al. 1995).

Las filogenias así producidas tienen la capacidad de agrupar diferentes secuencias mitocondriales dentro de “clusters”, si comparten determinadas substituciones estables. Richards y col. (1996) han analizado las secuencias del D-loop de 821 individuos de Europa y del Este Medio con este método, encontrando 5 grupos mitocondriales. Por el contrario, cuando se han analizado las secuencias con métodos convencionales, la

diferenciación de los grupos no es tan clara o no es suficientemente robusta (Richards et al. 1996; Salas et al. 1998). Cabe mencionar, sin embargo, que la distancia de Tamura y Nei (1993) desarrollada en base a las características que presenta la variabilidad intraespecífica de la región de control del mtDNA humano (variación en la tasa de mutación entre sitios, composición desigual de bases y mayor proporción de transiciones respecto a las transversiones), no ha sido utilizada para el análisis de las secuencias en las poblaciones europeas y sería interesante su uso para comprobar si es capaz de diferenciar los grupos observados por Richards y col. (1996).

Por otra parte, Torroni y colaboradores han utilizado un método de alta resolución con enzimas de restricción (Torroni et al. 1992) para analizar la variabilidad del mtDNA humano. Este método define los haplotipos examinando alrededor del 20% de toda la secuencia del DNA mitocondrial (Torroni et al. 1994b). Al reconstruir las relaciones filogenéticas de los haplotipos encontrados, utilizando el método de la parsimonia y el de Neighbor-Joining, estos autores observaron diversos linajes o “clusters” de mtDNA bien definidos a los que han denominado haplogrupos (Ballinger et al. 1992; Torroni et al. 1992; 1994b; 1994d; Chen et al. 1995; Torroni et al. 1996). Los haplotipos agrupados en cada uno de estos “clusters”, comparten determinados polimorfismos de restricción que los caracterizan. Es interesante destacar, que en algunos casos, los métodos de reconstrucción filogenética fallaron en la inclusión de un tipo mitocondrial dentro del haplogrupo que le correspondía de acuerdo a los polimorfismos que presentaba (Torroni et al. 1994b), probablemente debido a que contenía algunas substituciones adicionales de poco valor filogenético que influyeron negativamente en el análisis. Esta observación pone de manifiesto (i) que los métodos de reconstrucción filogenética pueden ser confundidos por las substituciones no informativas surgidas a menudo en el mtDNA debido a su alta tasa de mutación y (ii) que los polimorfismos que definen los haplogrupos han sido producidos por mutaciones que probablemente ocurrieron una sola vez en la evolución y por lo tanto son suficientemente estables para clasificar, por sí mismos, los tipos mitocondriales dentro de grupos monofiléticos.

Los haplogrupos siguen la nomenclatura alfabética iniciada por Wallace y Torroni (1992) y la mayoría de ellos han mostrado ser específicos en cada continente, por lo que pueden ser usados para rastrear las migraciones a este nivel. Más aún, las poblaciones de cada continente pueden ser comparadas de acuerdo a la frecuencia que presentan de cada haplogrupo, lo que ha demostrado ser de utilidad en la inferencia de patrones migratorios dentro del continente (Torroni et al. 1992; 1998b). Por otro lado, si se cuantifica la variabilidad que existe en cada haplogrupo, es posible calcular su edad aproximada utilizando una tasa de mutación. En la Tabla MR-1 se muestran los haplogrupos de cada continente y sus tiempos de coalescencia. El hecho de que los haplogrupos Africanos sean los más antiguos, junto con la existencia de un haplogrupo africano que puede ser el antecesor de los haplogrupos europeos y asiáticos, está en concordancia con la teoría del origen africano reciente del Homo sapiens (Chen et al. 1995).

Ahora bien, la observación de que las regiones codificantes y la región de control se heredan juntas y por lo tanto están completamente ligadas, ha llevado a algunos investigadores a buscar una correlación entre los haplogrupos definidos por los polimorfismos de restricción y las sustituciones en las secuencias del D-loop (Graven et al. 1995; Torroni et al. 1996). De acuerdo con Torroni y col. (1996), mediante esta correlación es posible alcanzar dos objetivos. Primero, corroborar que los haplogrupos identificados sean en verdad monofiléticos, pues de ser así, las secuencias de la región de control de los mtDNAs de un determinado haplogrupo, deberían contener un conjunto único y monofilético de sustituciones de nucleótidos. En segundo lugar, diferenciar las variantes de la región de control que al estar asociadas de forma específica con cada haplogrupo muestren ser relativamente antiguas y estables, de aquellas que son recientes o que han sufrido mutaciones paralelas entre haplogrupos o retromutaciones (Torroni et al. 1996). Esto es posible debido a dos mecanismos que no son mutuamente excluyentes:

a) Cuando se hereda un DNA mitocondrial, se heredan tanto los polimorfismos de restricción que definen el haplogrupo como las sustituciones de la región de control. Si estas sustituciones ocurrieron en sitios estables, conservarían una relación exclusiva con los polimorfismos de restricción, pero si por el contrario surgieron en

sitios hipervariables, pueden dejar de ser exclusivas del haplogrupo si han surgido independientemente en otros haplogrupos.

b) Cuando en un mtDNA ocurre una mutación que separa dos linajes “fundando” un nuevo haplogrupo, sus descendientes pueden acumular nuevas mutaciones en sitios estables que conservarán la relación exclusiva con el haplogrupo, pero también en sitios que por ser inestables podrán surgir en otros linajes.

Continente	Haplogrupo	Tiempo de divergencia	
		Enzimas de restricción ^a	Secuencia del D-loop ^b
Africa			
	L	98,000-130,000 ¹	---
	L1	86,000-113,000 ¹	111,000 ± 5,700 ⁷
	L2	59,000-78,000 ¹	56,000 ± 3,000 ⁷
	L3	---	77,000 ± 2,400 ⁷
Asia			
	M ^c	55,500-73,100 ¹	---
América			
	A	25,800-34,000 ²	16,900 ± 840 ⁸
	A1	---	19,500 ± 970 ⁸
	A2	---	25,000 ± 1,240 ⁸
	B	11,700-15,400 ²	25,400 ± 1,260 ⁸
	C	33,100-43,600 ²	20,200 ± 1,000 ⁸
	D	18,200-29,500 ²	---
	D1	---	37,300 ± 1,850 ⁸
	X	23,000 ± 5,000 ³	31,000 ± 4,000 ³
Europa			
	H	27,700-29,600 ⁴	20,500 ± 2,500 ⁹
	I	25,500-33,600 ⁵	35,000 ± 8,500 ⁹
	J	17,200-22,700 ⁶	28,000 ± 4,000 ⁹
	K	13,400-17,700 ⁵	15,500 ± 3,000 ⁹
	T	8,000-11,000 ⁶	46,500 ± 6,000 ⁹
	U	51,000-67,000 ⁶	---
	U5	---	52,500 ± 6,500 ⁹
	V	12,200-13,000 ⁴	12,300-13,100 ⁴
		---	12,500 ± 3,000 ⁹
	W	---	18,500 ± 6,500 ⁹
	X	30,000-40,000 ³	24,000 ± 6,500 ⁹

Tabla MR-1 Los haplogrupos de cada continente y sus tiempos de divergencia. ^a estimada utilizando dos tasas de mutación: 2.2% y 2.9% por millón de años (Ref. 2), excepto para el H, V y X. ^b estimada utilizando una tasa de una transición/20,180 ± 1,000 años para el HVS-I (Ref. 8). ^c incluye los haplogrupos asiáticos A,B,C,D,E,F y G. Referencias: 1, Chen et al. 1995; 2, Torroni et al. 1994a; 3, Brown et al. 1998; 4, Torroni et al. 1998b; 5, Torroni et al. 1994b; 6, Torroni et al. 1996; 7, Watson et al. 1997; 8, Forster et al. 1996; 9, Richards et al. 1998.

Así, los autores que han comparado los polimorfismos de restricción con la secuencia de la región de control que presentan las mismas muestras, han encontrado en el D-loop tanto los sitios estables que se correlacionan con los haplogrupos de forma unívoca (Francalacci et al. 1999), como los sitios que han sufrido mutaciones paralelas o retromutaciones y que se encuentran indiscriminadamente entre los haplogrupos (Torrioni et al. 1996). La Tabla MR-2 muestra las substituciones en el D-loop que han demostrado su valor filogenético al estar asociadas a un haplogrupo específico.

Esta correlación puede ser usada para obtener información adicional de datos previamente publicados, pues a partir de la secuencia se puede inferir el haplogrupo mitocondrial, de tal forma que es posible determinar la frecuencia de los haplogrupos en las poblaciones de las que sólo se dispone de las secuencias del D-loop. Por otra parte, también puede ser útil en el proceso de reconstrucción filogenética de los tipos mitocondriales, pues ayuda a detectar los sitios conflictivos de manera análoga al método de las redes medias, como han mostrado Francalacci y col. (1999), aunque el proceso de reconstrucción filogenética es realizado manualmente y el resultado no es tan comprensivo.

De hecho, los “clusters” encontrados analizando las secuencias del D-loop tanto en poblaciones europeas (Richards et al. 1996) como africanas (Watson et al. 1997) utilizando el método de Bandelt y col. (1995), se corresponden con los haplogrupos determinados con enzimas de restricción; lo que ha conducido a la unificación de la nomenclatura de los haplogrupos (Richards et al. 1998) y a la combinación de los dos métodos de análisis (Macaulay et al. 1999a). Con esta combinación de métodos se ha resuelto el estatus de algunos haplogrupos, se han evidenciado nuevos subgrupos, se han identificado mutaciones recurrentes en los sitios de restricción y se han definido con más claridad las substituciones del D-loop que se correlacionan con los haplogrupos. Además, basándose en criterios de los dos métodos Macaulay y col. (1999a) han sintetizado los datos disponibles sobre la variabilidad del mtDNA y han construido un árbol genealógico que relaciona todos los haplogrupos identificados (Fig. MR-1). La estructura de este árbol, está en completo acuerdo con el origen africano reciente del antecesor común de todo el mtDNA humano actual.

Finalmente, cabe destacar que la correlación entre las sustituciones en el D-loop y los haplogrupos de restricción, también puede ser muy útil en el estudio del DNA antiguo, ya que como veremos en secciones posteriores, puede ayudar en la autenticación de las secuencias de mtDNA extraído de restos antiguos.

		Polimorfismos en la secuencia			
Grupo	Subgrupo ^a	Polimorfismos de restricción	HVS-I	HVS-II	Regiones Codificantes
L1a		+3592	16148T, 16172C*, 16187T, 16188G, 16189C, 16223T, 16230G, 16278C*, 16311C*, 16320T	00073G	---
L1b		+3592	16126C*, 16187T, 16189C, 16223T, 16264T, 16270T*, 16278T, 16311C*	00073G	---
L2		+3592, +16310Rsal*, +16389Hinfl/-16390Aval	16223T, 16278T, 16311T*, 16390A	00073G	---
L3b		-3592Hpal	16223T, 16278T	00073G	03592C
L3a		---	16223T, 16278C*	00073G	---
X		-1715Ddel*, +14470Accl	16223T, 16278T*	00073G	12705T, 14470C
W		+8249Aval/-8250HaeIII, -8994HaeIII	16223T, 16292T	00189G, 00204C, 00207A	12705T
I		-4529HaeII, +8249Aval/-8250HaeIII, +10032AluI, +16389BamHI/-16390Aval/+16390Mbol	16129A*, 16223T, 16391A	00199C, 00204C, 00250C	04529T, 10034C, 10238C, 12705T, 15043A, 15924G
A		+663 HaeIII	16223T, 16290T, 16319A, 16362C*	00073G	00663G
M		+10394Ddel, +10397 Alu I	16223T	00073G	10400T, 12705T
	C	-13259HincII/+13262AluI	16298C*, 16327T		13263G
	D	-5176AluI	16362C*		05178A
	E	-7598Hhal	16227G, 16278T*, 16362C*		
	G	+4830HaeII/+4831Hhal	16362C*		04833G
B		del 9pb COII-tRNALys	16189C*	00073G	---
F		-12406HincII/-12406Hpal, -16303Rsal	16189C*, 16304C*	00073G	
J		+4216NlaIII, +10394Ddel, -13704Bst01, -16065Hinfl	16069T, 16126C*	00073G, 00295T	04216C, 11251G, 12612G, 13708A
	J1		16261T		
	J2		16193T		
T		+4216NlaIII, +4914Bfal, +13366BamHI/-13367Aval/+13367Mbol, +15606AluI, -15925MspI	16126C*, 16294T	00073G	04216C, 04917G, 10463C, 11251G, 13368A, 14905A, 15607G, 15928A
	T1	-12629Aval	16163G, 16186T, 16189C*		
	T2		16296T		
	T2a		16296T, 16304C*		
U		+12308Hinfl		00073G	12308G, 12372A
	K	-9052HaeII/-9053Hhal, -16310Rsal*	16224C, 16311C*		11467G
	U1	-4990AluI, -13103Hinfl/+13104Mbol, +14068TaqI	16189C*, 16249C		13104G, 14070G
	U2	+15907Rsal	16051G, 16129C		15907G
	U3		16343G		
	U4	+4643Rsal, +11329AluI	16356C		04646C, 11332T
	U5		16270T*		03197C, 11467G
	U6	+16217TaqI	16172C*, 16219G		
H		-7025 AluI, -14766 Msel	---	00073A	07028C, 14766C
V		-4577NlaIII, -14766Msel	16298C*	00072C, 00073A	04580A, 14766C, 15904T

Tabla MR-2 Correlación entre los polimorfismos de restricción y las sustituciones en la secuencia. Datos obtenidos de Macaulay y col. (1999a) y de Francalacci y col. (1999). ^a los subgrupos contienen además los polimorfismos del grupo al que pertenecen; * polimorfismos que han sufrido mutaciones paralelas y/o retromutaciones.

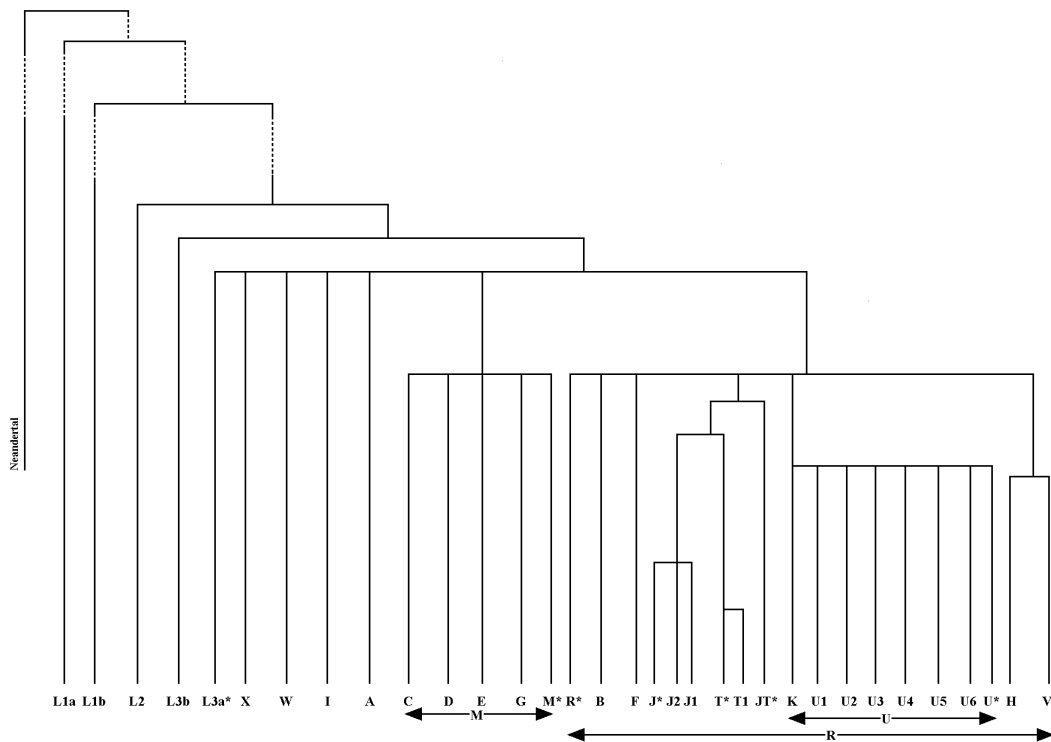


Figura MR-1 Genealogía esquemática del mtDNA mundial. Modificada de Macaulay y col. (1999a). Nótese la situación de los haplogrupos A,B y F fuera del haplogrupo M; la inclusión del haplogrupo K dentro del haplogrupo U; la cercana relación entre el H y el V y la divergencia relativamente reciente del haplogrupo J.

Distribución de las diferencias por parejas

Los datos genéticos indican que durante la mayor parte de su historia, la población humana ha estado compuesta por un mínimo de 10,000 individuos reproductivos (Takahata, 1993), por lo que en algún punto de la historia tuvo que haber aumentado significativamente su tamaño (Jorde et al. 1998). La teoría de la coalescencia puede aplicarse a los datos de la variabilidad del mtDNA para estimar la fecha de esta expansión.

Según Rogers y Harpending (1992), los episodios de crecimiento y disminución de la población dejan huellas características en la distribución de las diferencias en los sitios de nucleótidos (o de restricción) entre pares de individuos de la población. Si se

dibuja un histograma con la frecuencia relativa de pares de individuos que difieren por x sitios, un episodio de crecimiento genera una curva en forma de campana (Fig. MR-2).

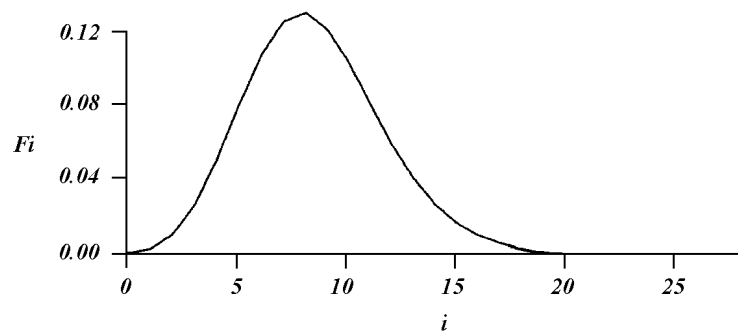


Figura MR-2 Modelo de expansión súbita de Rogers y Harpending (1992).

Si esta distribución empírica es ajustada a un modelo teórico de expansión poblacional súbita, basado en la coalescencia, es posible determinar si la población ha sufrido un crecimiento repentino o si ha atravesado por un cuello de botella, así como el tiempo desde que sucedió el evento y el tamaño inicial de la población. De acuerdo a este modelo, la curva se desplaza hacia la derecha, recorriendo una unidad del eje horizontal en cada $1/2u$ generaciones, en dónde u es la tasa de mutación; de tal forma que mientras más reciente haya sido la expansión, más hacia la izquierda estará situada la curva (Rogers y Harpending, 1992). Relethford (1998), ha extendido el modelo para poder determinar la variabilidad que existía en la población antes del crecimiento repentino.

No obstante, esta aproximación ha sido criticada por Bonneuil (1998), indicando que debido a la varianza asociada al proceso de la coalescencia, los datos del mtDNA no reflejan una sola historia demográfica, por lo que desarrolló un método que permite obtener un conjunto del 95% de todos los escenarios posibles capaces de producir el mismo resultado en la distribución de las diferencias por parejas. El problema de la elección del escenario más probable ha sido analizado independientemente por Weiss y von Haeseler (1998), quienes desarrollaron un método para discernir entre diferentes historias demográficas posibles utilizando una razón de verosimilitud. Su método está basado en un modelo de la evolución de secuencias de la región de control del mtDNA (Tamura y Nei, 1993) y puede diferenciar las poblaciones en expansión, las que han

decrecido y las que están en equilibrio. Tiene la ventaja de que no asume el modelo evolutivo de alelos infinitos como el modelo de expansión repentina de Rogers y Harpending.

De cualquier forma, la mayoría de los autores que han analizado la variabilidad mundial del mtDNA humano mediante la distribución de las diferencias por parejas utilizando estos modelos, han concluido que el incremento dramático en el tamaño efectivo de la población humana ocurrió en el Pleistoceno tardío, hace 60,000 a 120,000 años y que el 30% de la variabilidad actual ya estaba presente antes de la expansión, mientras que el resto se ha generado con ella (Rogers y Harpending, 1992; Relethford, 1998). Sherry y col. (1994), analizaron 25 poblaciones diferentes y encontraron que la mayoría de ellas había sufrido este aumento de población entre el Paleolítico medio tardío y el Paleolítico superior, con una media de aproximadamente 40,000 años, cuando el hombre anatómicamente moderno ya había aparecido; resultado que es consistente con la hipótesis basada en el registro arqueológico de que durante el Paleolítico superior hubo una expansión de la población debida a un desarrollo tecnológico (Sherry et al. 1994).

Más aún, si se analiza la variabilidad de poblaciones agrupadas por continentes, se observa que las poblaciones africanas se expandieron primero, hace 99,000 años, después las asiáticas hace 52,000 años y finalmente las europeas hace 23,000 años (Fig. MR-3), lo que está en concordancia con un origen africano reciente; aunque los efectos de la selección natural, el tamaño efectivo de la población y los patrones de flujo genético no pueden ser excluidos (Jorde et al. 1998). Jorde y col. (1998) también han hecho notar que las fechas de expansión de las poblaciones asiáticas y europeas, coinciden con el remplazo de la cultura Mousteriense por la tecnología más elaborada y refinada del Paleolítico superior.

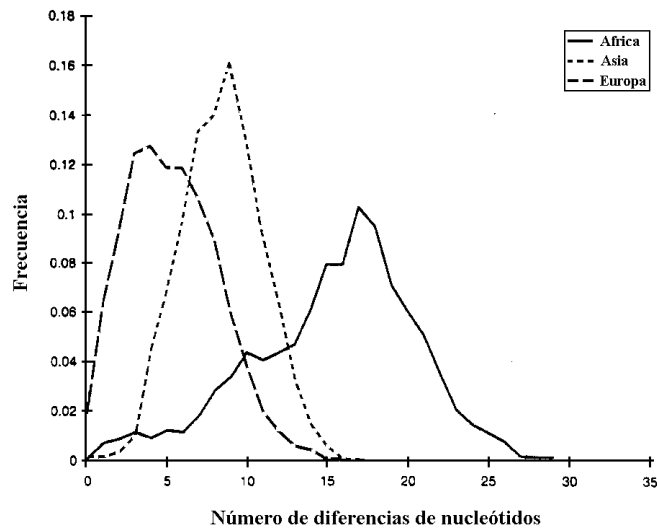


Figura MR-3 Distribución de diferencias por parejas en poblaciones africanas, asiáticas y europeas. Modificado de Jorde et al. 1998.

Por otra parte, Watson y col. (1996) y von Haeseler y col. (1995) analizaron la distribución de las diferencias por parejas de diversas poblaciones, encontrando que la poblaciones productoras de alimentos presentaban una curva bien definida, consistente con el modelo de expansión, en tanto que las poblaciones de cazadores-recolectores tendían a presentar distribuciones multimodales, acordes con el modelo de tamaño poblacional constante. Así, estos investigadores sugieren que en general, las poblaciones de cazadores-recolectores han mantenido una población constante, en tanto que los productores de alimentos, son las que han expandido su tamaño (Watson et al. 1996).

No obstante, Bandelt y Forster (1997) han manifestado que estos resultados están en desacuerdo con la edad estimada para el desarrollo de la agricultura de hace 10,000 años, ya que siguiendo la lógica de Watson y col. (1996), todas las poblaciones humanas hubiesen presentado distribuciones multimodales hace 10,000 años y desde entonces algunas habrían expandido su población hasta el punto de mostrar actualmente distribuciones con forma de campana. El problema reside en que de acuerdo a las tasas “filogenéticas” de evolución, en 10,000 años no hay tiempo suficiente para que la expansión de la población desarrolle una variabilidad con una distribución de este tipo.

Otra observación hecha por Bandelt y Foster al trabajo de Watson y col. (1996), es que su definición de distribuciones multimodales es algo subjetiva.

En cualquier caso, si la forma de campana de la distribución de las diferencias por parejas se debe al incremento poblacional que siguió a la domesticación de las principales plantas cultivables, entonces la edad de la expansión derivada de la distribución acampanada de cualquier población, tendría que ser menor de 10,000 años; y esto sólo podría reconciliarse con las estimaciones previas si la tasa de evolución utilizada en ellas no es la adecuada (von Haeseler et al. 1995; Pääbo, 1996). Las estimaciones genealógicas indican una tasa mucho más rápida y sería interesante investigar si existen tasas intermedias y sobre todo, que tipo de tasa se debería usar en el intervalo que va de los 10,000 a los 60,000 años para resolver esta controversia.

Por otra parte, Watson y col. (1997), han demostrado que se puede obtener una mayor resolución en la interpretación de las expansiones poblacionales, si se analiza la distribución por parejas que presenta cada haplogrupo de la población, en vez de analizar toda la población en su conjunto.

Estudios de la variabilidad del mtDNA en poblaciones europeas

La reconstrucción de árboles filogenéticos, utilizando una matriz de distancias interpoblacional, fue uno de los primeros métodos utilizados para analizar la variabilidad mitocondrial de poblaciones europeas bien definidas (Bertranpetit et al. 1995; Francalacci et al. 1996). Los árboles obtenidos mostraron ramas extremadamente cortas entre estas poblaciones y ramas más largas entre las asiáticas y africanas (Fig. MR-4), indicando que la aproximación empleada no tenía el poder resolutivo para diferenciar poblaciones cercanamente relacionadas.

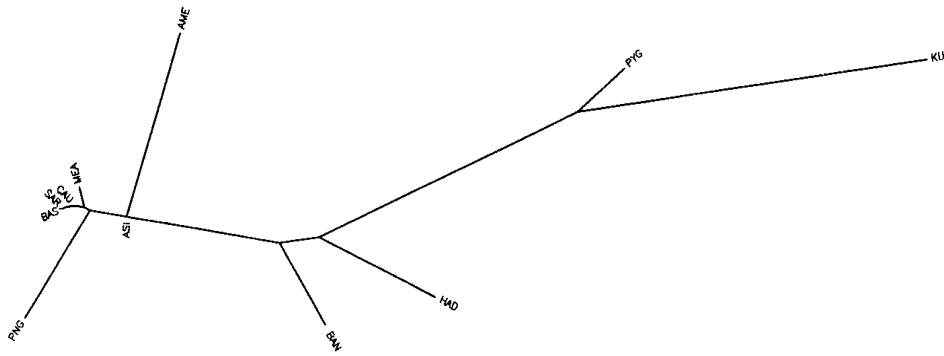


Figura MR-4 Árbol filogenético sin raíz obtenido mediante Neighbor-Joining a partir de una matriz de distancias. BAS, Vascos; AME, Amerindios Nuu-Chah-Nulth; MEA, Este medio; PYG, Pígmicos; KUN, !Kung; BAN, Bantu; PNG, Papua Nueva Guinea; SAR, Cerdeña; CAU, Caucasoideos; ASI, Asiáticos; HAD, Hadza. Tomado de Bertranpetit y col. (1995).

En Europa la variabilidad mitocondrial es muy reducida, tanto dentro de las poblaciones como entre ellas, debido probablemente a que las poblaciones tienen un origen relativamente reciente (Comas et al. 1997). Así, poblaciones que caracterizadas con otros polimorfismos muestran una identidad genética diferenciada, como los Vascos, son prácticamente iguales a otras en cuanto a su variabilidad mitocondrial. Por esta falta de resolución algunos autores llegaron a considerar que el mtDNA no era una herramienta adecuada para analizar poblaciones europeas (Bertranpetit et al. 1995).

No obstante, el análisis de la variabilidad del mtDNA en Europa, ha permitido hacer inferencias importantes utilizando diversos métodos de análisis. Por un lado, se han hecho estudios caracterizando la variabilidad de algunas poblaciones con fines comparativos ya sea mediante índices de diversidad o mediante la distribución de las diferencias por parejas, y por otro, se ha estudiado la variabilidad y relaciones filogenéticas de los haplotipos europeos en su conjunto, caracterizados por la secuenciación del D-loop y por los análisis de restricción. Las conclusiones de estos trabajos están enriqueciendo la polémica sobre el poblamiento de Europa y sus procesos demográficos durante el Paleolítico y Neolítico.

Origen de la variabilidad genética en Europa

Existen dos periodos principales en la historia demográfica de Europa que han podido dejar su huella en la variabilidad genética de las poblaciones actuales. Uno de ellos ocurrió durante el Paleolítico y está relacionado con la difusión del hombre anatómicamente moderno (HAM) y el otro durante la difusión de la agricultura durante el Neolítico.

La difusión del HAM en el continente europeo puede entenderse en el marco de las dos teorías principales que existen sobre su origen. De acuerdo con la teoría de la “salida de África”, durante el Paleolítico superior el HAM se expandió en Europa desde el Este Medio reemplazando a las poblaciones locales de Neandertales con muy poca o ninguna mezcla genética (Stringer, 1989), en tanto que la teoría multirregional postula que en Europa, el HAM surgió a partir de una transición de las poblaciones de Neandertales con la intervención de flujo genético desde otras áreas ocupadas por Homo (Thorne y Wolpoff, 1992), en cuyo caso, la composición genética en la Europa actual debería mostrar una variabilidad profunda cuyos orígenes se remontarían incluso a los tiempos de Homo erectus.

De igual forma, para la difusión de la agricultura durante el Neolítico, se han postulado dos modelos: i) por difusión de los agricultores mismos (difusión démica), que proviniendo del próximo Oriente, reemplazarían o se mezclarían con las poblaciones preexistentes de cazadores-recolectores y ii) por la difusión de la tecnología (difusión cultural), que sería asimilada por los cazadores-recolectores y que no implica un influjo genético substancial (Menozzi et al. 1978).

Los distintos escenarios posibles tanto en el Paleolítico como en el Neolítico, producirían resultados predecibles en la composición genética de las poblaciones modernas. Sin embargo, no es fácil diferenciar entre los efectos que hayan podido

producir en el acervo genético de Europa cada uno de los dos procesos, ya que ambos podrían haberse originado en el Este medio (Comas et al. 1996).

Algunos estudios genéticos han sido interpretados como evidencia de que la agricultura se diseminó en Europa por difusión démica. No obstante, otros análisis indican que la variabilidad mitocondrial observada actualmente tuvo su origen durante el Paleolítico sin verse alterada substancialmente durante el Neolítico, lo que se ha considerado como evidencia de que fue un proceso de difusión cultural el responsable del desarrollo de la agricultura en Europa. Esta contradicción podría resolverse en caso de que alguna de estas interpretaciones no sea correcta, o en el caso de que los marcadores utilizados para obtener las dos líneas de evidencia tengan la propiedad de reflejar procesos diferentes.

El mtDNA y la expansión del Paleolítico

En los trabajos en los que se ha estimado, con diferentes parámetros, la variabilidad del mtDNA dentro de las poblaciones de Europa y del Este Medio, se ha encontrado un gradiente de mayor a menor desde el Este hacia el Oeste, que puede ser explicado por la existencia de una ola migratoria procedente del Este con una reducción gradual de la población (Comas et al. 1997; Salas et al. 1998). Además, las distribuciones de las diferencias por parejas que presentan casi todas las poblaciones europeas analizadas, son consistentes con el modelo de expansión de Rogers y Harpending (1992) y muestran que las poblaciones del Este Medio se expandieron primero, seguidas por las del centro de Europa y finalmente las más occidentales (Fig. MR-5), lo que apoya la hipótesis de la ola migratoria (Francalacci et al. 1996; Comas et al. 1996; 1997; Salas et al. 1998).

En un estudio reciente se ha definido con más detalle esta expansión, que involucraría principalmente a las poblaciones de la línea mediterránea, pero que no es

observable en las poblaciones del norte de Europa, situadas por encima de una línea imaginaria en la latitud de los Pirineos (Simoni et al. 2000a).

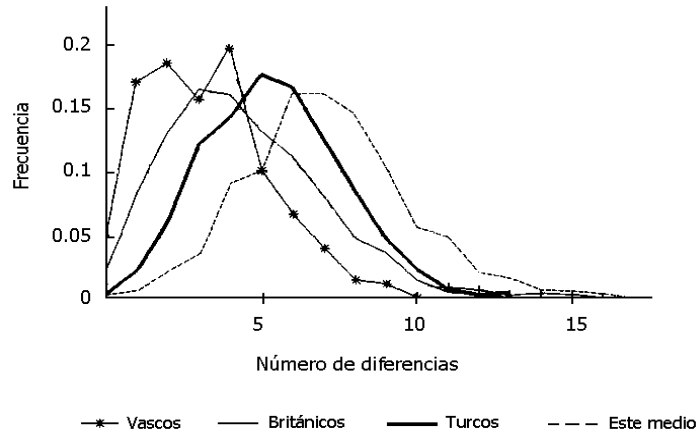


Figura MR-5 Distribución de las diferencias por parejas de cuatro poblaciones europeas y del oeste de Asia. Modificado de Comas et al. 1996.

Como esta expansión puede estar relacionada tanto con la del HAM durante el Paleolítico, como con la de los agricultores en el Neolítico, dependiendo de la fecha en la que haya ocurrido, resulta de vital importancia la datación de la expansión. Si se aplican las tasas filogenéticas, se obtienen fechas relacionadas con el Paleolítico y aunque hay mucha diferencia en las dataciones debido a que las tasas tienen una amplia variación (Pag. 21), las estimaciones siempre indican que la expansión ocurrió con anterioridad al Neolítico. De acuerdo con Comas y col. (1997) y Salas y col. (1998), la expansión comenzó en el Este Medio hace 50,000 – 130,000 años, llegando a las poblaciones del Oeste hace 13,000 – 26,000 años.

En los trabajos de Richards y colaboradores (1996; 1998), en los que se han identificado los “clusters” de secuencias de la región de control (que se corresponden con los haplogrupos de los sitios de restricción), se ha determinado la antigüedad de cada uno de los “clusters” de acuerdo a la magnitud de la variabilidad que presentan, utilizando también una tasa de mutación filogenética. Según este análisis, el haplogrupo U fue introducido desde el Este próximo junto con la industria Aurignaciana relacionada con el

HAM y la mayoría de los demás haplogrupos fueron introducidos subsecuentemente durante el Paleolítico superior temprano, hace 20,000-25,000 años. Posteriormente, las poblaciones permanecerían relativamente dispersas hasta el mejoramiento climático post-glacial, hace alrededor de 15,000 años, para después, expandirse de forma importante en dirección Sur – Norte, posiblemente desde zonas de refugio entre los Pirineos y Ucrania y quizá también desde la costa del Mediterráneo (lo que estaría en contradicción con la expansión Este - Oeste inferida por las distribuciones de las diferencias por parejas). Finalmente habría una inmigración desde el Este próximo, con la que entraría el haplogrupo J, iniciada al principio del Neolítico, lo que eventualmente estimularía el desarrollo de la producción agrícola en todo el continente (Richards et al. 1998).

Así, la mayoría de las secuencias de mtDNA existentes actualmente en Europa (probablemente alrededor del 85%) tendrían su origen en el Paleolítico superior y las restantes (15%) llegarían más recientemente a Europa desde el Este próximo. Según Richards y col. (1998) este resultado concuerda con la evidencia arqueológica de que la inmigración Neolítica inicial desde el este próximo, fue relativamente pequeña y con las evidencias arqueológicas (Whittle, 1996) que sugieren que el establecimiento de la agricultura en Europa fue un desarrollo heterogéneo y substancialmente indígena.

Sobretodo, estos trabajos demuestran que el análisis de los haplotipos de la región de control del mtDNA, en conjunto con un tratamiento filogenético apropiado, es capaz no sólo de revelar la estructura y el origen de las poblaciones en la escala intercontinental, sino que también tiene el poder resolutivo para desvelar incluso la estructura genética mitocondrial de poblaciones relativamente homogéneas como las europeas (Richards et al. 1996).

Por otra parte, los análisis con enzimas de restricción han mostrado que en el continente europeo toda la variabilidad mitocondrial puede circunscribirse dentro de 10 haplogrupos: H, I, J, K, M, T, U, V, W y X (Torroni et al. 1996). Siete de estos haplogrupos (H, I, J, K, T, V, W) han sido encontrados exclusivamente en poblaciones europeas, por lo que es probable que se hayan originado dentro de Europa después de que

los caucasoides ancestrales se separaran de los antecesores de los Africanos y de los Asiáticos. El haplogrupo M es predominante en poblaciones asiáticas (Torroni et al. 1994d) y también ha sido detectado en África (Anglés et al. 2000); el haplogrupo U se ha encontrado en poblaciones africanas (Torroni et al 1996) y el haplogrupo X (o un grupo cercanamente relacionado) se ha encontrado en poblaciones indígenas americanas (Forster et al. 1996; Brown et al. 1998).

Las estimaciones de la edad de cada haplogrupo, indican que el haplogrupo U es el más antiguo (51,000-67,000 años), por lo que pudo haberse originado en Africa expandiéndose posteriormente hacia el Este medio y Europa. El haplogrupo H, es el más común en todas las poblaciones europeas y pudo haber sido introducido en Europa desde el Este cercano hace 20,000-25,000 años en una segunda ola migratoria Paleolítica, contemporánea con la difusión de la tecnología Gravettiana (Torroni et al. 1998b).

De acuerdo con Torroni y col. (1998b), el haplogrupo V, está emparentado con el H, pero a diferencia de éste, tuvo su origen en Europa o en el Norte de Africa hace 12,000-13,000 años. En su opinión, según la distribución actual de este haplogrupo, existen tres posibles lugares para su origen: el norte de Africa, la península Ibérica y Escandinavia, entre los Saami. Torroni y colaboradores (1998b) se inclinan por la hipótesis de que se originó en el Norte de España y sur de Francia, desde donde se habría expandido hacia el norte de Africa y el centro y Noroeste de Europa después del final del segundo Pleniglacial(Fig. MR-6). Además, es posible que otros haplogrupos hayan seguido este patrón de expansión post-glacial. Por ejemplo, la distribución del haplogrupo H está en correlación con la del V, indicando que pudo haber sido dispersado por el mismo proceso migratorio desde el Sudoeste hacia el Noreste de Europa (Torroni et al. 1998b).

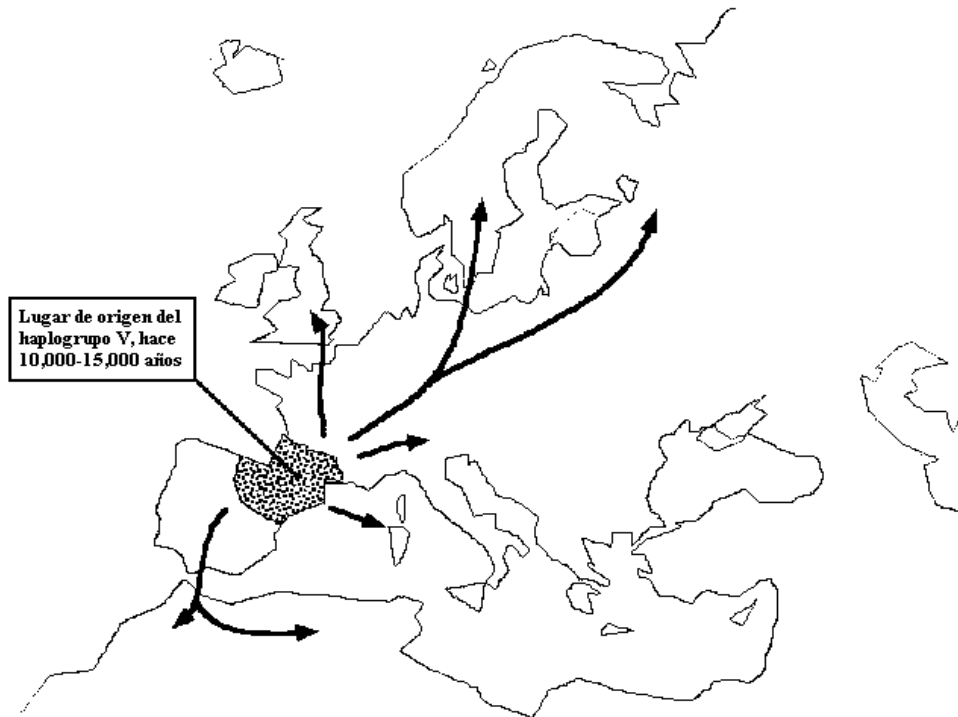


Figura MR-6 Mapa de Europa mostrando el lugar de origen más probable del haplogrupo V y el patrón de su dispersión. Modificado de Torrioni y col. (1998b).

Esta expansión post-glacial podría ser compatible con la predicha por el análisis de secuencias de Richards y col. (1998), pero no con la inferida de las diferencias por parejas. Por otra parte, también está en contradicción con los resultados de Izagirre y de la Rúa (1999), quienes opinan que no hubo una migración con estas características. Asimismo, análisis recientes de un conjunto importante de datos indican que no existió esta expansión post-glacial (Simoni et al. 2000a), aunque estos resultados también han producido cierta polémica (Torrioni et al. 2000; Simoni et al. 2000b).

En cualquier caso, los tres tipos de análisis indican que la variabilidad del mtDNA actual proviene de las expansiones del Paleolítico, sin embargo, no se debe olvidar que los tres métodos basan sus estimaciones en alguna tasa de evolución del mtDNA. Si se utilizaran tasas de mutación más rápidas, como las genealógicas, estas expansiones podrían coincidir con la difusión de la agricultura durante el Neolítico. Richards y col. (1996) argumentan en contra de esta interpretación, basándose en la observación de que la secuencia de mtDNA publicada por Anderson y col. (1981), también llamada secuencia de referencia de Cambridge (CRS), es la más común en Europa y su

frecuencia es similar a lo largo de todo el continente. Si la secuencia de referencia representa una introducción Neolítica, entonces cabría esperar que la población Vasca, descendiente de las poblaciones pre-neolíticas, presentara una baja frecuencia de la CRS. Por el contrario, los vascos tienen una de las frecuencias más altas de este tipo mitocondrial (Richards et al. 1996).

Las frecuencias alélicas y la expansión del Neolítico

Los análisis de componentes principales y de autocorrelación espacial han detectado en Europa gradientes en las frecuencias alélicas que van de Sudeste a Noroeste, lo que se ha interpretado como indicadores de un influjo substancial de las primeras comunidades de granjeros del Este cercano durante el Neolítico temprano, ya que coinciden con algunas rutas establecidas para la difusión de la agricultura (Menozzi et al. 1978; Sokal et al. 1991). Esta interpretación, sin embargo, carece de una estimación temporal utilizando alguna tasa de mutación, lo que resulta fundamental en este método pues se ha determinado que los procesos migratorios sucesivos no borrarían del todo las huellas genéticas de una primera migración (Cavalli-Sforza et al. 1993). Esto conlleva el riesgo de descartar la posibilidad de que el gradiente Sudeste-Noroeste observado en Europa, sea en realidad producto de la expansión del Paleolítico, sobre todo si la difusión de la agricultura siguió el modelo de difusión cultural. Es por esto interesante el trabajo de Chikhi y col. (1998), en el que se analizan 7 loci nucleares hipervariables en más de 60,000 individuos europeos. En este trabajo, se han encontrado gradientes muy similares a los descritos en trabajos anteriores y se ha utilizado una tasa de mutación para estimar los tiempos de expansión de las poblaciones que lo originaron. Las fechas obtenidas no superan los 10,000 años, resultado que concuerda con la teoría de la difusión démica de la agricultura, pero que está en contradicción con las observaciones basadas en el mtDNA.

Sin embargo, es posible que el tamaño reducido de las poblaciones durante el Paleolítico superior permitiera que la deriva actuara significativamente sobre sus

frecuencias alélicas (Cavalli-Sforza et al. 1993), pero que tuviera un efecto pequeño sobre la diversidad de sus secuencias mitocondriales (Comas et al. 1996). En tal caso, el efecto de la expansión de los agricultores pudo ser muy importante sobre las frecuencias alélicas, transformando un patrón de variación aleatorio en una clina, pero pudo haber tenido poca influencia en la diversidad de las secuencias del mtDNA, que reflejaría por lo tanto, eventos más antiguos (Comas et al. 1996).

Por ejemplo, la sorprendente similitud entre la población de Galicia y la Vasca al nivel mitocondrial (Salas et al. 1998), puede parecer difícil de reconciliar con las grandes diferencias encontradas en los estudios de las frecuencias alélicas de marcadores genéticos clásicos (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1991; Calafell y Bertranpetit, 1994). No obstante, de acuerdo con Salas y col. (1998) diferentes datos genéticos pueden explicar diferentes eventos poblacionales y ser compatibles más allá de las discrepancias aparentes. Las frecuencias alélicas son muy afectadas por la deriva cuando el tamaño poblacional es pequeño y la composición de la secuencia, por otra parte, es mucho menos propensa a la influencia del tamaño de la población, así que las dos poblaciones pudieron tener un origen similar en el Paleolítico Superior tardío. El paso del tiempo hasta la expansión del Neolítico tardío podría haber permitido que las dos poblaciones divergieran de acuerdo a sus frecuencias alélicas, manteniendo sin embargo, la misma composición básica en el mtDNA, que no habría sido alterada con el tiempo (Salas et al. 1998).

Así, las diferencias observadas en los Vascos mediante las frecuencias alélicas, pueden deberse a un largo periodo de aislamiento y deriva génica que ha acentuado estas diferencias en algunos loci en comparación con otras poblaciones europeas (Richards et al. 1996). En este sentido, tal y como concluyen Salas y colaboradores (1998) el análisis genético de poblaciones con diferentes marcadores puede ayudar no sólo en la reconstrucción de los patrones de la historia humana sino también a entender las discrepancias entre los análisis de diferentes sistemas genéticos.

Otras explicaciones para resolver la controversia, se basan en el modo hereditario del mtDNA. Al ser heredado por vía materna, la estructura de la variabilidad del mtDNA en una población puede ser diferente de la observada con otros marcadores si la migración femenina es diferente de la masculina (Cavalli-Sforza y Minch, 1997). Pérez-Lezaun y col. (1999) han encontrado evidencia de patrones diferentes de migración masculina y femenina en poblaciones asiáticas analizando el mtDNA y microsatélites del cromosoma Y en los mismos individuos. De hecho, el comportamiento diferente de hombres y mujeres cuando dos poblaciones entran en contacto, podría influir en la composición genética de la población resultante (Passarino et al. 1998). Si por alguna razón, las mujeres de las poblaciones de cazadores-recolectores poseían alguna ventaja reproductiva (v.g. social) en relación a las mujeres de los agricultores, entonces una expansión démica no mostraría una influencia significativa de los agricultores del Este en el mtDNA europeo.

No cabe duda que para resolver estas cuestiones de forma consistente, es necesario el estudio diacrónico de la variabilidad del mtDNA en las poblaciones humanas. En este sentido, son particularmente interesantes las poblaciones que han sufrido la invasión o la inmigración (documentada) de otras poblaciones, como en el caso de las poblaciones mallorquinas o las nativas americanas. Así pues, el DNA antiguo representa una herramienta única para la contrastación de las distintas teorías sobre la estructura genética de Europa. El trabajo de Izagirre y de la Rúa (1999) es un buen ejemplo de cómo esta metodología puede enriquecer la discusión.

El origen del hombre anatómicamente moderno en Europa

La relativamente poca variabilidad mitocondrial encontrada en Europa tanto con los análisis de poblaciones definidas (Comas et al. 1997), como de los “clusters” de secuencias de la región de control (Richards et al. 1996) y de los haplogrupos de los sitios de restricción (Torroni et al 1994b), es compatible con la hipótesis del remplazamiento total de los Neandertales por el hombre anatómicamente moderno. Más

aún, la variabilidad encontrada con las tres aproximaciones, descarta la posibilidad de que los Neandertales contribuyeran al acervo mitocondrial europeo, ya que para aceptar que tan escasa divergencia provenga de tiempos tan antiguos, la tasa de mutación tendría que ser como mínimo 8 veces más lenta que la más conservadora (Richards et al. 1996), cuando las estimaciones teóricas (Lundstrom et al. 1992) y genealógicas (Parsons et al. 1997) indican la tendencia contraria.

Estas observaciones están en acuerdo también con los estudios de la variabilidad mitocondrial a nivel mundial, que rechazan incluso la más mínima mezcla genética entre las poblaciones del HAM y las poblaciones locales de Homo durante el Pleistoceno tardío (Manderscheid y Rogers, 1996). Más aún, las diferencias encontradas entre las secuencias mitocondriales de dos individuos Neandertales con secuencias humanas, indican que no hubo mezcla genética a nivel mitocondrial entre el hombre de Neandertal y el hombre anatómicamente moderno. En efecto, los análisis filogenéticos muestran que las dos secuencias mitocondriales de los individuos Neandertales se sitúan en una rama independiente del resto de los 1,897 haplotipos mitocondriales humanos analizados procedentes de poblaciones de todo el mundo (Ovchinnikov et al. 2000).

La población de estudio

El análisis de componentes principales de las frecuencias alélicas en la península ibérica (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1991) ha mostrado que el primer componente principal señala una clara diferenciación de la población Vasca, originada por el aislamiento de la población desde tiempos paleolíticos. Sin embargo, el segundo componente principal muestra una divergencia genética de Cataluña en relación a las zonas del centro y centro-sur, con una mayor diferenciación entre la zona Catalana y el centro de la península. Esta diferenciación puede provenir de las migraciones del Neolítico o bien de las migraciones desde la Europa central al final del segundo milenio A.C. y la primera mitad del primer milenio A.C., ya que la región Norte-Este de la península es considerada como una de las rutas más importantes de las influencias del centro-sur de Francia a través de los Pirineos (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1991).

Se ha propuesto que las migraciones anteriores a la Neolítica como la de la cultura Megalítica, o posteriores como la visigoda o la de los francos, no han tenido el suficiente impacto demográfico como para explicar el gradiente de diferenciación observado en el segundo componente principal (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1991). Así mismo, este gradiente podría ser explicado por un proceso particular de Neolitización en la península, en el que la población Catalana sufrió una influencia demográfica importante, en tanto que las poblaciones del centro y sur de la península sufrieron un proceso de aculturación, pero con un menor impacto demográfico y por lo tanto genético (Bertranpetit y Cavalli-Sforza, 1991).

En cuanto a la variación del mtDNA, corroborando los estudios de mapas sintéticos, se ha encontrado una diferencia principal de la población Vasca y cierta diferenciación de las poblaciones Catalana y Andaluza en segundo término (Côrte-Real et al. 1996), salvando la homogeneidad encontrada en todas las poblaciones europeas. En conjunto, estos estudios sugieren que la población catalana se diferenció (en mayor o

menor medida) durante la influencia de los inmigrantes Neolíticos y que desde entonces ha mantenido estas diferencias, a pesar de que no sean tan claras.

Así, el estudio de la población Catalana en diferentes etapas temporales, puede contribuir en los siguientes puntos:

- Corroborar el panorama del mtDNA Europeo descrito por Richards y col. (1996; 1998) y Torroni y col. (1998b).
- Corroborar la especificidad del lugar de origen del haplogrupo V.
- Si la estructura del mtDNA europeo se conformó en el Paleolítico, la sucesión de poblaciones en el área no debería mostrar diferencias significativas en el acervo mitocondrial.
- Por el contrario, si la tasa de mutación es en realidad tan rápida como lo predicen los estudios genealógicos, se esperarían diferencias importantes entre las distintas poblaciones.
- Corroborar la importancia de las migraciones post-Neolíticas (en el caso de una tasa de mutación rápida para el mtDNA).

Obviamente, para obtener estos datos es necesario contar con poblaciones definidas de distintas épocas. En Cataluña se cuenta con una serie temporal importante, con yacimientos medievales, tardo-romanos, romanos, pre-romanos, neolíticos e incluso pre-neolíticos.