

Una contribución a la problemática del sexo bioantropológico mediante análisis proteómico del esmalte dental de restos humanos de la Prehistoria reciente de la submeseta norte ibérica*

A contribution to the problem of bioanthropological sex through proteomic analysis of dental enamel from human remains from the recent prehistory of the Northern Iberian Meseta

Ángel Esparza Arroyo^a, Javier Velasco Vázquez^b, Miguel del Nogal Sánchez^c, Ana M.^a Casas Ferreira^c y José Luis Pérez Pavón^c

RESUMEN

La determinación sexual de restos humanos arqueológicos ha descansado tradicionalmente en los análisis bioantropológicos, asumiéndose la incertidumbre que ello suponía y la imposibilidad de conocer esta importante variable en el caso de los subadultos. Para mitigar tales inconvenientes, se cuenta hoy con las técnicas de ADN antiguo, pero sus requerimientos impiden su generalización. En este trabajo se ensaya una alternativa, el análisis proteómico, esto es, la detección directa en el esmalte dental de péptidos dimórficos de la amelogenina mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, con un protocolo bien consolidado. Esta primera aproximación se basa en una colección de dientes, diez de ellos de enterramientos de Cogotas I, y otros seis que van del Calcolítico al Bronce Final, todos ellos de la submeseta norte. El análisis proteómico ha permitido la determinación sexual de esos individuos, incluidos los subadultos –el grueso del lote–, obteniéndose así una información fiable que enriquece su valoración cultural y abre el camino para profundizar en el género y sus implicaciones. Este ensayo también ha tenido en cuenta la controversia, candente en muy diversas disciplinas, sobre la relación sexo-género

y el carácter no binario de ambos, problemas que gravitan sobre los análisis osteológicos y también arqueométricos –tildados incluso de actos performativos–, por lo que, tras un acercamiento al debate, se justifica la decisión de utilizar la vía analítica.

ABSTRACT

Sex estimation of archaeological human remains has traditionally relied on bioanthropological analysis, assuming the uncertainty that this entails and the impossibility of knowing this significant variable in the case of sub-adult individuals. The development of ancient DNA techniques allows this problem to be solved, but its requirements limit the generalization of its use. In this work, we evaluate the use of proteomic analysis, an alternative method based on the direct detection in dental enamel of dimorphic peptides of amelogenin using liquid chromatography-mass spectrometry, following a well-contrasted protocol. This first approximation is based on a collection of teeth, ten belonging to Cogotas I burials, and six ranging from the Chalcolithic to the Final Bronze Age, all of them from the Iberian Northern

* Esta investigación se enmarca en los proyectos del Plan Nacional de Investigación I+D+i HUM 2005-00139/HIST (Ministerio de Educación y Ciencia), HAR 2009-10105 y HAR2013-43851-P (Ministerio de Economía e Innovación) Gobierno de España.

^a Grupo de Investigación Reconocido Estudios de Prehistoria en la Península Ibérica (GIR PrehUSAL), Dpto. de Prehistoria, Historia Antigua y Arqueología. Universidad de Salamanca. C/ Cervantes s/n. 37071 Salamanca. España. Correo-e: esparza@usal.es (autor de correspondencia) <https://orcid.org/0000-0002-9139-0774>

^b Servicio de Patrimonio Histórico. Cabildo de Gran Canaria. C/ Bravo Murillo 23. 35003 Las Palmas de Gran Canaria. España. Correo-e: jvelascov@grancanaria.com <https://orcid.org/0000-0003-0339-3500>

^c Dpto. de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Salamanca. Pl. Caidos s/n. 37008 Salamanca. España. Correos-e: MNS_mns@usal.es <https://orcid.org/0000-0001-6255-0364>; ACF_anacasas@usal.es <https://orcid.org/0000-0002-9640-2797>; JLPP_jlpp@usal.es <https://orcid.org/0000-0003-1822-3424>

Recibido 24-I-2022; aceptado 13-VI-2022.

Subplateau. Proteomic analysis has allowed the sex determination of these individuals, including subadults (most of the sample). The results provide reliable information that enriches their cultural assessment and opens the way to a deeper understanding of gender and its implications. This essay has also taken into account the controversy, heated in many different disciplines, on the sex-gender relationship and the non-binary nature of both, issues that gravitate on osteological and archaeometric analyses –qualified even as performative acts–, so, after assessing this debate, the decision to use this analysis technique is justified.

Palabras clave: Calcolítico; Campaniforme; Bronce Antiguo; Bronce Medio-Tardío; Bronce Final; Cogotas I; Soto Formativo; submeseta norte ibérica; enterramiento; subadultos; género; cromatografía líquida capilar acoplada a espectrometría de masas; LC-MS.

Key words: Chalcolithic; Bell Beaker; Early Bronze Age; Middle-Late Bronze Age; Final Bronze Age; Cogotas I; Soto Formativo; Iberian Meseta; burial; subadults; gender; capillary liquid chromatography-mass spectrometry; liquid chromatography-mass spectrometry.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La identificación del sexo en el campo de la Prehistoria

La estimación del sexo de los restos óseos humanos es de indiscutible importancia en el campo de la Prehistoria. Siendo totalmente obvia para el abordaje de enfoques poblacionales (*sex ratio*, pirámide de edades, nutrición, indicadores de salud y de estrés, mortalidad diferencial, etc.), es cada vez más necesaria en el acercamiento a la sociedad y sus mecanismos constitutivos. Contribuye, por ejemplo, a detectar y comprender las formas de parentesco o el origen y desarrollo de las identidades –especialmente las de género y etarias–, la división sexual del trabajo o las desigualdades, con la aparición de personas y fracciones sociales distinguidas. Interviene en cuestiones de tanta actualidad como las formas de violencia externa e interna, especialmente la de género, o la existencia de formas no binarias de identidad, y cuestiones como paleodietas y migraciones. Para todos estos problemas sin los ‘datos’ del sexo biológico mal se podrían superar subjetivismos e ideas preconcebidas. La estimación del sexo combinada con los atributos arqueológicos definitorios de los rangos servirá para esclarecer los procesos de formación de élites –en general, de los procesos de jerarquización social–. Como botón de muestra de la importancia de esa estimación recuérdense algunos casos, en absoluto anecdóticos. El primero es el de la “Princesa de Vix”, cuyos restos, mal conservados y algo ambiguos, indujeron a dudar sobre su condición femenina, llegándose

a proponer que era un varón travestido (*vid.* Knüsel 2002: 278), embrollándose así, hasta su reciente esclarecimiento, la verdadera cuestión, la relación entre las mujeres y el poder. En el segundo caso, la combinación de los datos de sexo y parentesco genético entre individuos masculinos y femeninos enterrados en el Círculo B de Micenas conduce a la conclusión de que la presencia femenina en esas tumbas “reales” se justifica sobre todo por nacimiento y no por estatus marital (Bouwman *et al.* 2008). En otro orden de cosas, la identificación del sexo de inhumados infantiles y juveniles es crucial para detectar formas más o menos disimuladas de violencia de género y, en consecuencia, contrastar interpretaciones todavía controvertidas como la del infanticidio diferencial, o la del rapto de niñas y muchachas jóvenes, formulada a partir de su ausencia en las tumbas de masacre del Neolítico LBK (Teschler-Nicola *et al.* 1999).

Tan ambiciosos objetivos están lejos –y no solo por el desigual desarrollo de la actividad arqueológica– en el caso de la investigación efectuada sobre Cogotas I. Este grupo arqueológico, característico del Bronce Medio y Tardío de la meseta de la península ibérica (*ca.* 1850-1150 cal AC), corresponde a poblaciones de economía agropastoril, con cierta movilidad, organizadas en grupos de pequeña escala moradores de poblados con frecuentes abandonos y reocupaciones, y para el que empieza a detectarse una complicada ideología sobre la muerte que no facilita el avance del conocimiento acerca de la sociedad. Como en multitud de sociedades preliterarias, probablemente había una distinción entre dos formas de morir, la sobrevenida a una edad avanzada o en condiciones “normales”, que se consideraría ‘buena muerte’, y la ‘mala muerte’, acaecida en circunstancias anómalas (accidente, peste, complicaciones en la gestación o el parto, etc.) o a personas de ciertos perfiles sociales. La primera parece haber conllevado ritos no conservadores, como la exposición de cadáveres (Esparza *et al.* 2012b), mientras que los restos de las víctimas de mala muerte eran enterrados, casi siempre sin ajuar, en los propios poblados, dentro de hoyos subterráneos, muchos de ellos graneros agotados. Tal ideología, probablemente relacionada con el mantenimiento de un orden social que frenaba la aparición de acusadas desigualdades y jerarquía, permitiría explicar el que solamente se conozca un limitado número de esqueletos completos y de restos parciales (procedentes de la exposición o de reutilizaciones de huesos en ciertas prácticas rituales). Las condiciones de reclutamiento que operaban en relación con la muerte han conducido, en definitiva, a una información parcial y sesgada. Por ello resulta imprescindible apurar los indicios disponibles, entre ellos los del sexo, que nos resulta desconocido para todo un importante segmento, el de los subadultos, e inseguro para el resto de la po-

blación. Si se consigue obtenerlo, su combinación con la edad al fallecer, los indicadores de la dieta, marcadores de estrés, rasgos patológicos, y los atributos del enterramiento, permitiría desvelar pautas de conducta relacionables con la estructura social.

1.2. La estimación del sexo en la investigación arqueológica

La vía tradicional para la estimación del sexo de los esqueletos ha sido el enfoque de la antropología física / osteoarqueología que, a pesar de su enorme validez y contribuciones, tiene en este concreto aspecto limitaciones casi insalvables como el cierto dimorfismo sexual, especialmente en el cráneo y sobre todo en la pelvis que tiene la especie humana. Incluso cuando se dispone del esqueleto completo la incertidumbre en la determinación puede llegar a ser notable, no ya en el caso de los individuos infantiles y juveniles, sino también en el de los adultos que, por presentar rasgos poco acusados e incluso combinaciones contradictorias, no pueden ser clasificados con seguridad como masculinos o femeninos (White y Folkens 2005). Por otro lado, los métodos de diagnóstico disponibles (cuantitativos, cualitativos, morfoscópicos, etc.) presentan siempre un grado mayor o menor de incertidumbre en la estimación del sexo en atención a variables tan diversas como las consustanciales al procedimiento o procedimientos empleados, las particularidades de cada población, el grado de representación y conservación de los restos analizados e, incluso, la experiencia de la persona encargada del estudio. Tampoco puede olvidarse que las estimaciones osteológicas dependen en buena medida de las colecciones de referencia y, aunque estas cubren hoy un amplio espectro geográfico y cronológico, la variabilidad entre poblaciones e incluso las particularidades de la alimentación según géneros se entremezclan con lo biológico dificultando alcanzar en todos los casos un grado de certidumbre en la estimación del sexo (Bethard y VanSickle 2020). Así, no es extraño que las categorías que expresan los resultados sean por lo general Masculino Probable, Indeterminado, Femenino Probable y Femenino, siendo los subadultos comúnmente considerados como una categoría aparte o bien incluidos en el grupo de los indeterminados.

En la práctica antropológica actual, los métodos empleados en la estimación del sexo tratan de reducir al máximo el grado de incertidumbre en su diagnóstico. Suelen recurrir para ello a la combinación de procedimientos cualitativos y cuantitativos. Por lo general los resultados son realmente buenos y permiten afrontar con garantías el estudio de esas poblaciones, pero ha de asumirse que siempre es una estimación. Mediante es-

tos procedimientos es difícil lograr una determinación del sexo, esto es, unos niveles de confianza cercanos al 100 % de tal forma que pueda ser incorporada como criterio de análisis conocido y no como una variable de valor probable (Klales 2020: XXXIV).

En los individuos no adultos se han ensayado análisis morfológicos y métricos para la estimación del sexo, recurriendo cuando era posible, p. ej., a la observación particular y medición de elementos como la mandíbula, los coxales, la escotadura ciática o el ilion (Schutkowski 1993; Lewis 2007; Murail *et al.* 2005; Vlak *et al.* 2008; Bruzek *et al.* 2017). Sin embargo, antes del desarrollo de las características sexuales secundarias, existe un limitado grado de dimorfismo en el material esquelético, lo que reduce la fiabilidad de este tipo de métodos de diagnóstico antes de la pubertad (Lewis 2007). Por estas razones, un porcentaje significativo de los subadultos pasan a engrosar las listas de indeterminados. Como han señalado Gowland *et al.* (2021), la incapacidad para determinar de forma precisa el sexo en los restos de no-adultos ha condicionado los estudios de la infancia y la niñez en el pasado, contribuyendo también a su marginación en los estudios arqueológicos.

La genética vino a posibilitar la detección del sexo cromosómico mediante análisis de ADN, que incluye el marcador específico de la amelogenina (Lassen *et al.* 1996; Izagirre *et al.* 2001). La amelogenina es una de las proteínas que intervienen en la formación del esmalte dental. Su gen codificante se sitúa en los cromosomas sexuales, X e Y, con dos isoformas o variantes, AMELX y AMELY respectivamente. Se obtienen los resultados cuando se tipifica el ADN mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR), facilitada por la existencia de kits comerciales que proporcionan resultados relativamente rápidos y económicos. Sin embargo, las condiciones de conservación de las muestras arqueológicas, y las posibles fuentes de contaminación del ADN hacen que el porcentaje de éxito en las pruebas no sea muy elevado. Además, se ha descubierto un fenómeno frecuente en muestras que, como las arqueológicas, conservan escaso contenido en ADN: el *allelic dropout*, un fallo parcial por el cual, de los dos alelos posibles, por azar solamente amplifica uno. Si se trata del X no es segura la atribución a un individuo femenino, ya que no se puede excluir que el alelo “silente”, no amplificado, fuese el Y. La solución del problema pasa por la (costosa) duplicación de muestras y la repetición de las PCR, habiéndose concluido que con ocho PCR se reduce a un 0,01 % el riesgo de determinar como mujer a un varón (Daskalaki *et al.* 2011).

Una novedosa técnica de secuenciación de ADN denominada *whole-genome sequencing* permite hoy establecer con gran seguridad el sexo biológico del individuo a partir, no del gen de la amelogenina, sino

de los cromosomas completos, considerando la ratio de secuencias alineadas con el cromosoma Y en comparación con el total de secuencias alineadas con ambos cromosomas sexuales (Skoglund *et al.* 2013). Pero la aplicación de esta técnica, por sus exigencias y costes, por no citar los condicionantes tafonómicos, se ve también frenada en el campo arqueológico.

Como alternativa ha comenzado a explorarse recientemente la vía de la Proteómica, es decir, el análisis químico de la amelogenina presente en el esmalte dental, proteína que, como se dijo, tiene dos isoformas, AMELX y AMELY. En este trabajo se analizan el péptido AMELX (44-52) y el AMELY (58-64) mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS por su sigla en inglés) (Stewart *et al.* 2016, 2017; Parker *et al.* 2019, 2021a; Buonasera *et al.* 2020; Rebay-Salisbury 2020; Gowland *et al.* 2021). Esta es la técnica utilizada de forma experimental en este trabajo, centrado en Cogotas I, nuestro ámbito de investigación prehistórica, aunque ligeramente extendido también a etapas anteriores y un momento posterior.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Piezas dentales

El lote analizado lo componen dieciséis piezas (Fig. 1), correspondientes casi todas al grupo Cogotas I. Se han incluido otras cinco ligeramente más antiguas –del Calcolítico, Campaniforme y Bronce Antiguo– y una más reciente –del Bronce Final– a fin de evaluar posibles efectos de la mayor o menor antigüedad de los dientes en los resultados analíticos. Las piezas 12 y 16, más antiguas, se han incorporado de forma puramente tentativa. Su deteriorado aspecto, en un caso por la acción del fuego, hacía necesario el ensayo de cara a trabajos posteriores. Integran el lote muestras de individuos adultos y subadultos, porque además de ensayar el método de determinación sexual en una población diversa, se perseguía, en el primer caso, cotejar los resultados obtenidos con los estudios bioantropológicos previos y, en el segundo, contar con esta variable para un conjunto del que solo disponíamos de las edades aproximadas de muerte.

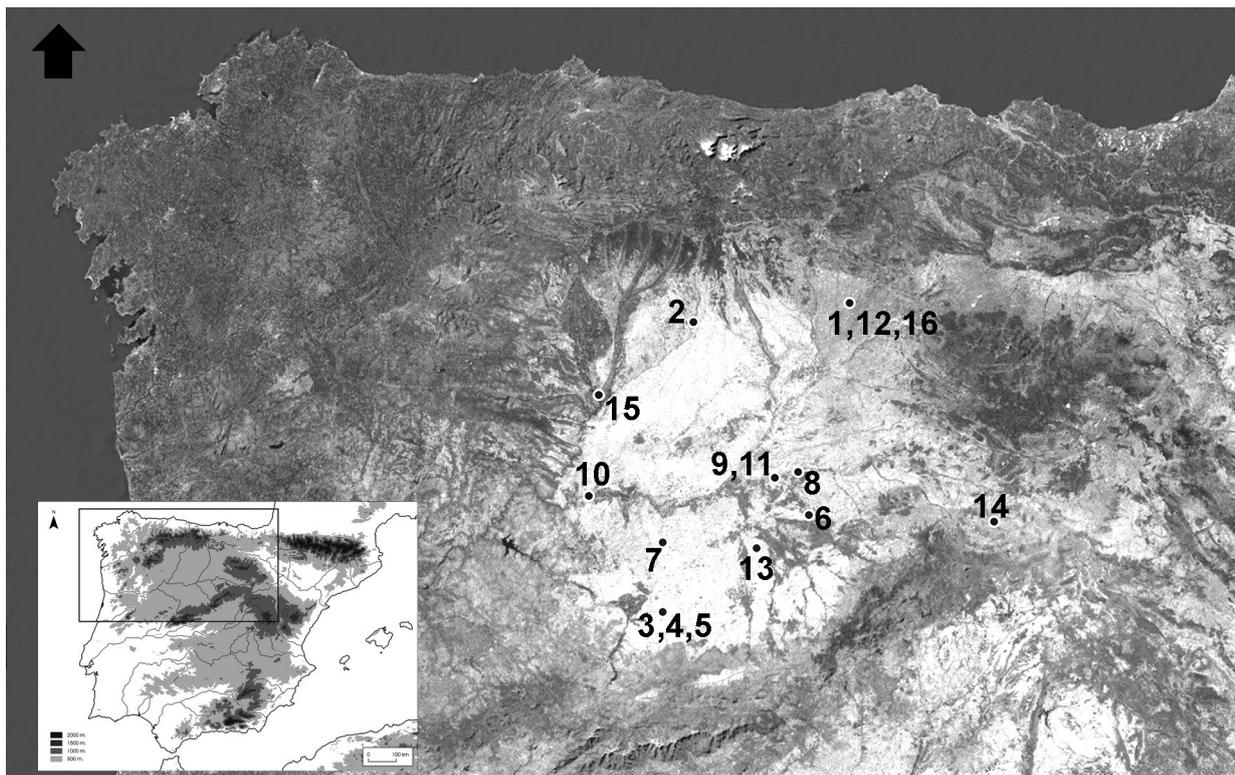


Fig. 1. Procedencia de las muestras de yacimientos de la submeseta norte de la península ibérica: 1, 12 y 16. Tres Chupos-Abarre (Villegas, Burgos); 2. Canto Blanco (Sahagún/Calzada del Coto, León); 3, 4 y 5 Tordillos (Aldeaseca de la Frontera, Salamanca); 6. Barco de los Habares (Cuéllar, Segovia); 7. El Tablón (Alaejos, Valladolid); 8. El Cementerio (Quintanilla de Abajo, Valladolid); 9 y 11 Soto de Tovilla (Tudela de Duero, Valladolid); 10. Consejo Consultivo (Zamora, id.); 13. Perro Alto (Fuente Olmedo, Valladolid); 14. Los Tolmos (Caracena, Soria); 15. Los Cuestos de la Estación (Benavente, Zamora). En color en la versión electrónica.

Nº	Yacimiento	Contexto	Sigla	Pie-za	Sexo antropológico (edad)	Atribución crono-cultural	Bibliografía
1	Tres Chopos-Abarre	Hoyo 2	TCA-01	¹ C	Indet.	Proto-Cogotas I	Arnáiz y Montero 2008
2	Canto Blanco	Hoyo 79-N	CBS-01	M ³	M (25-35 a)	Cogotas I Pleno	Esparza <i>et al.</i> 2019
3	Tordillos	AN-AV/41-50/ hoyo IX-K	TAF-07	C ₁	Indet. (subadulto 6-8 a)	Proto-Cogotas I	Esparza <i>et al.</i> 2012b
4	Tordillos	AN-AV/41-50/ hoyo X-G	TAF-18	C ₁	F? (18-25 a)	Cogotas I Pleno	Esparza <i>et al.</i> 2012b
5	Tordillos	AN-AV/121-130/ hoyo 5	TAF-27	C ₁	F (18-25 a)	Proto-Cogotas I	Esparza <i>et al.</i> 2012b
6	Barco de los Habares	Hoyo 17	BHC-01	¹ Pm	¿ F? (17-20 a)	Proto-Cogotas I	Vega Melero 1996
7	El Tablón	Hoyo 44 – u.e. 35	ALA-02	Pm ¹	Indet. (subadulto 5-6 a)	Proto-Cogotas I	Domínguez Bolaños 1998
8	El Cementerio	Hoyo 00	QUO-01	I ²	Indet. (subadulto 6-7 a)	Proto-Cogotas I	Inédito (com pers. Cruz Sánchez)
9	Soto de Tovilla	Sector 2 -Hoyo 113	TST-02	¹ I	Indet. (subadulto 2-4 a)	Proto-Cogotas I	Cruz Sánchez 2008
10	Consejo Consultivo	Sondeo 3 – u.e. 326	ZAM-02	I ^{max}	Indet. (subadulto 7-11m)	Cogotas I Pleno	Caro y Fernández. 2007; Esparza <i>et al.</i> 2018
11	Soto de Tovilla	Sector 3 - Hoyo 197	TST-01	I ¹	M (20-25 a)	Calcolítico	Esparza <i>et al.</i> 2008
12	Tres Chopos-Abarre	Hoyo 1	TCA-02	₁ Pm	Indet. (Erosio- nado)	Calcolítico/BA?	Arnáiz y Montero 2008
13	Perro Alto	Sepultura	FOL-01	² Pm	M (18-25 a)	Campaniforme	Martín Valls y Delibes 1989
14	Los Tolmos	S. A cata J 9-C/ 1045	LTA-05	Pm ₁	Indet. (subadulto 8-9 a)	Bronce Antiguo	Sánchez Polo 2021
15	Los Cuestos de la Estación	C3 Sondeo A- u.e. 121	CEB-02	₁ M	Indet. (subadulto 6 -8 a)	Soto Formativo	Esparza <i>et al.</i> 2016
16	Tres Chopos-Abarre	Hoyo 2	TCA-03	I	Indet. (Quemado)	¿Calcolítico?	Arnáiz y Montero 2008

Tab. 1. Datos de las piezas dentales analizadas. La localización, en la figura 1.

La tabla 1 recoge la procedencia (Fig. 1) y características de las muestras, así como su clasificación cronocultural, cita bibliográfica o, en su caso, memoria de excavación (inéditas)¹. Los hallazgos de Cogotas I pro-

vienen de enterramientos de inhumación que empiezan a descubrirse con cierta frecuencia en los ‘campos de hoyos’, especialmente cuando las excavaciones afectan a una amplia extensión. Excepcional es el yacimiento de Tordillos, con sus depósitos secundarios de huesos humanos en hoyos prácticamente alineados y donde se ha detectado que algunos habían estado expuestos con

¹ P. J. Cruz Sánchez, D. San Gregorio Hernández, E. Martín Rodríguez y R. Martín Vela. *Informe correspondiente a los trabajos de seguimiento y excavación arqueológica en el Soto de Tovilla de Tudela de Duero (Valladolid)*. Informe técnico depositado en el Servicio Territorial de Cultura de la Junta de Castilla y León, Valladolid 2008; A. Domínguez Bolaños. *Primera campaña de excavación arqueológica en el yacimiento de El Tablón (Alaejos, Valladolid), Autovía de Castilla, N-620, Tramo Alaejos-Cañizal. 1997-1998*, Informe técnico depositado en el Servicio

Territorial de Cultura de la Junta de Castilla y León, Valladolid, 1998. D. Vega Melero. *Memoria Arqueológica. Variante de Cuéllar P.P. 3,900 a P.K. 4,160. Cuéllar (Segovia)*. Informe técnico depositado en el Servicio Territorial de Cultura de la Junta de Castilla y León. Segovia, 1996.

anterioridad. De los del Calcolítico el del Soto de Tovilla parece una auténtica sepultura, como también la de Perro Alto en Fuente Olmedo, una de las más conocidas tumbas del Campaniforme Ciempozuelos. Restos tal vez reutilizados como reliquias pudieron ser alguno de los de Villegas y la mandíbula de Los Tolmos de Caracena, y algo especial el de Benavente, sobre el que volveremos más adelante.

2.2. Métodos

2.2.1. Análisis bioantropológicos

La estimación del sexo en los individuos adultos se basó en las características morfométricas del cráneo y la pelvis, siguiendo los criterios estándares para este tipo de trabajos, recogidos en una extensa bibliografía (Buikstra y Ubelaker 1994; Bruzek 2002; Bass 2003; Langley *et al.* 2018; Bertsatos *et al.* 2020). Cuando el grado de representación anatómica o su estado de conservación lo impedían se usaron también funciones discriminantes a partir de las dimensiones de varios huesos largos, siempre teniendo en cuenta las limitaciones de este procedimiento por las diferencias entre la población estudiada y la de referencia (Aleman Aguilera 1997, 1999). En los esqueletos de adultos donde era posible se combinaban métodos cualitativos y cuantitativos, pero predominando los primeros en la mayoría de las ocasiones. En el caso de algún subadulto se ensayaron aproximaciones basadas sobre todo en la morfología de la mandíbula y del ilion, pero se prefirió mantenerlos dentro de la categoría de indeterminados.

2.2.2. Análisis mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (LC-MS)

2.2.2.1. Reactivos

Los reactivos utilizados para la determinación de las dos isoformas de la amelogenina (AMELX y AMELY) fueron: ácido fórmico, ácido trifluoroacético y acetonitrilo, suministrados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Scharlau (Barcelona) proveyó el ácido clorhídrico y Panreac (Barcelona) el peróxido de hidrógeno. El agua ultrapura (UHQ) utilizada en todos los experimentos se obtuvo con un sistema de purificación de aguas Wasserlab Ultramatic (Noain, España).

2.2.1.2. Preparación de muestra

La estrategia de preparación de muestra es una adaptación la utilizada en trabajos previos (Stewart

et al. 2016, 2017). El esmalte del diente se lavó con una disolución de peróxido de hidrógeno al 3 % (v/v) durante 30 s y, posteriormente, se enjuagó con agua ultrapura. A continuación, se colocaron 60 µL de una disolución de ácido clorhídrico al 5 % (v/v) en la tapa de un tubo Eppendorf de 0.2 mL y en un primer ataque se puso en contacto una parte de la muestra con la disolución ácida durante 2 min. Transcurrido este tiempo, se descartaron los 60 µL. Posteriormente, se hizo un segundo ataque sobre la misma porción de la muestra con otros 60 µL de ácido clorhídrico. El diente se colocó, de nuevo, sobre la tapa del tubo Eppendorf facilitando el contacto con el ácido durante 2 min. Estos 60 µL se tomaron como disolución de trabajo.

Con el objetivo de concentrar previamente los péptidos y eliminar las sales de la disolución de trabajo, se utilizaron puntas de pipeta Zip-Tip® que contenían 0,6 µL de un sorbente apolar C18 (Merck Millipore, Irlanda). Primero para el acondicionamiento del sorbente se pasaron a través del mismo con pipeta electrónica 10 µL de acetonitrilo. El proceso se repitió otras dos veces con nuevas porciones de acetonitrilo (volumen final, 30 µL). El acondicionamiento continuó con tres ciclos de 10 µL de una disolución acuosa de ácido fórmico al 0,1 % (v/v). Terminado el proceso de acondicionamiento, se extrajeron los péptidos de la disolución de trabajo. Para ello, se realizaron 10 ciclos de 10 µL descartando cada uno de ellos en la propia disolución. Después, se lavó el sorbente con la disolución de ácido fórmico al 0,1 % para eliminar interferentes (6 ciclos de 10 µL cada uno). Para la elución de los péptidos del sorbente se usó 4 µL de una disolución de acetonitrilo y agua ultrapura 60:40 (v/v) que contenía ácido fórmico en una proporción del 0,1 % (v/v). El extracto se evaporó hasta sequedad en corriente de helio, se reconstituyó con 12 µL de una disolución acuosa con ácido trifluoroacético al 0,1 % (v/v) y se inyectó en el sistema cromatográfico. Cada muestra de diente podría ser analizada varias veces, repitiendo el tratamiento en distintos puntos de la pieza.

2.2.1.3. Instrumentación

El método utilizado está basado en cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-ESI-HRMS por su sigla en inglés), utilizando una fuente de ionización por electrospray (ESI por su sigla en inglés) y un analizador de alta resolución tipo Orbitrap, y fue adaptado de publicaciones anteriores (Stewart *et al.* 2016, 2017). Los extractos se inyectaron con un sistema Vanquish UHPLC equipado con un espectrómetro Q Exactive Focus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific). Los péptidos se separaron mediante una columna Discovery® BIO Wide pore C18 (5 µm,

0,32 x 150 mm). La fase móvil está formada por una mezcla de (A) agua UHQ y (B) acetonitrilo, ambos con 0,1 % de ácido fórmico (v/v). El caudal de la fase móvil fue de 30 μ L/min y el volumen de inyección se fijó en 2 μ L. La separación se logró usando un gradiente comenzando en 1 % de B, aumentado a 13,3 % de B durante 13 min, luego a 25,6 % de B de 13 a 28 min, a 45 % de B de 28 a 38 min y a 90 % de B de 38 a 41 min. Posteriormente, se mantuvo constante al 90 % de B durante 15 min, se volvió al 1 % de B en 2 min y se mantuvo en esas condiciones durante 32 min. El tiempo cromatográfico total fue de 100 min. La ionización se realizó a un potencial de +3800 V, fijando la temperatura del capilar a 320 °C y utilizando nitrógeno como gas de desolvatación. Los péptidos AMELX y AMELY se detectaron en los modos combinados de barrido (*Full MS*, 400-1300 m/z) y monitorización de reacciones paralelas (*Parallel Reaction Monitoring*, PRM), utilizando como iones precursores los iones moleculares diprotonados $[M+2H]^{2+}$ de AMELX y AMELY (m/z 540.2796 y 440.2233, respectivamente) y una energía de colisión normalizada (NCE) del 20 %. La resolución se fijó en 70000 a m/z 200.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos con el método basado en LC-MS y las estimaciones previas con el método bioantropológico. El método cromatográfico determinó el sexo biológico en 14 de las 16 muestras estudiadas. En las muestras 12 y 16 no se obtuvo ninguna señal por falta de esmalte dental. La figura 2 muestra los cromatogramas de iones extraídos (m/z 540.2796 para AMELX y 440.2233 para AMELY). En las muestras 1, 4, 5, 8, 10, 14 y 15 se encontró únicamente el pico cromatográfico correspondiente al AMELX lo que determina la asignación del sexo biológico femenino. En las muestras 2, 3, 6, 7, 9, 11 y 13 se encontraron los picos cromatográficos del AMELX y del AMELY lo que determina la asignación del sexo biológico masculino. En estos últimos, la relación entre las áreas del pico correspondiente a AMELY respecto a AMELX estaba entre 0,4 y 1,3, valores habituales en este tipo de análisis (Stewart *et al.* 2017: 5).

En todos los casos, las señales encontradas (Fig. 2) son muy superiores a la señal más pequeña que se puede diferenciar del ruido. Esto permitiría la asignación del sexo incluso en muestras con concentraciones de los péptidos muy inferiores a las de las muestras estudiadas en este trabajo.

La estimación sexual de los seis individuos adultos a partir de criterios morfométricos coincide con la determinación mediante LC-MS en algo más del 83 % (5 sobre 6 casos). El porcentaje es significativo teniendo

en cuenta que no siempre el grado de conservación y representación esquelética permitía el máximo aprovechamiento de los procedimientos antropológicos más habituales (Bertsatos *et al.* 2020; Langley *et al.* 2018).

Muestras	Sexo	
	LC-MS	Antropológico
1	F	Indeterminado
2	M	M (25-35 años)
3	M	Indeterminado* (6-8 años)
4	F	F? (18-25 años)
5	F	F (18-25 años)
6	M	¿ F ? (17-20 años)
7	M	Indeterminado* (5-6 años)
8	F	Indeterminado* (6-7 años)
9	M	Indeterminado* (2-4 años)
10	F	Indeterminado* (7-11 meses)
11	M	M (20-25 años)
12	-	Indeterminado
13	M	M (18-25 años)
14	F	Indeterminado* (8-9 años)
15	F	Indeterminado* (6-8 años)
16	-	Indeterminado

Tab. 2. Resultados de los análisis LC-MS y estimaciones bioantropológicas previas. (F: femenino; M: masculino; *: indeterminados con edad estimada de muerte).

El único ejemplar discrepante procede del yacimiento segoviano del Barco de los Habares (Cuéllar). Su estado de preservación regular forzó una estimación sexual limitada a las características morfológicas observables en el cráneo, sin poder cotejarse con la pelvis que suele ofrecer una mayor precisión (Bruzek 2002; Bruzek *et al.* 2017) y, además, descartó cualquier procedimiento métrico. Se trata de un individuo de aspecto grácil, quizás en parte atribuible a su edad de muerte (17-20 años) y con una morfología de cráneo y mandíbula que llevó a clasificarlo como posible mujer (White y Folkens 2005: 386). Sin embargo, el análisis proteómico lo ha determinado como varón.

El individuo del Barco de los Habares es un buen ejemplo del grado de incertidumbre que a veces presentan los procedimientos de diagnóstico bioantropológico y que, con cada vez mayor frecuencia, puede ser corregida con un método fiable y accesible como el que se presenta en estas páginas. La nueva asignación del sexo de este individuo hace que ahora concuerde con la tendencia observada en la posición en la que el cuerpo fue inhumado (sobre su costado derecho, como

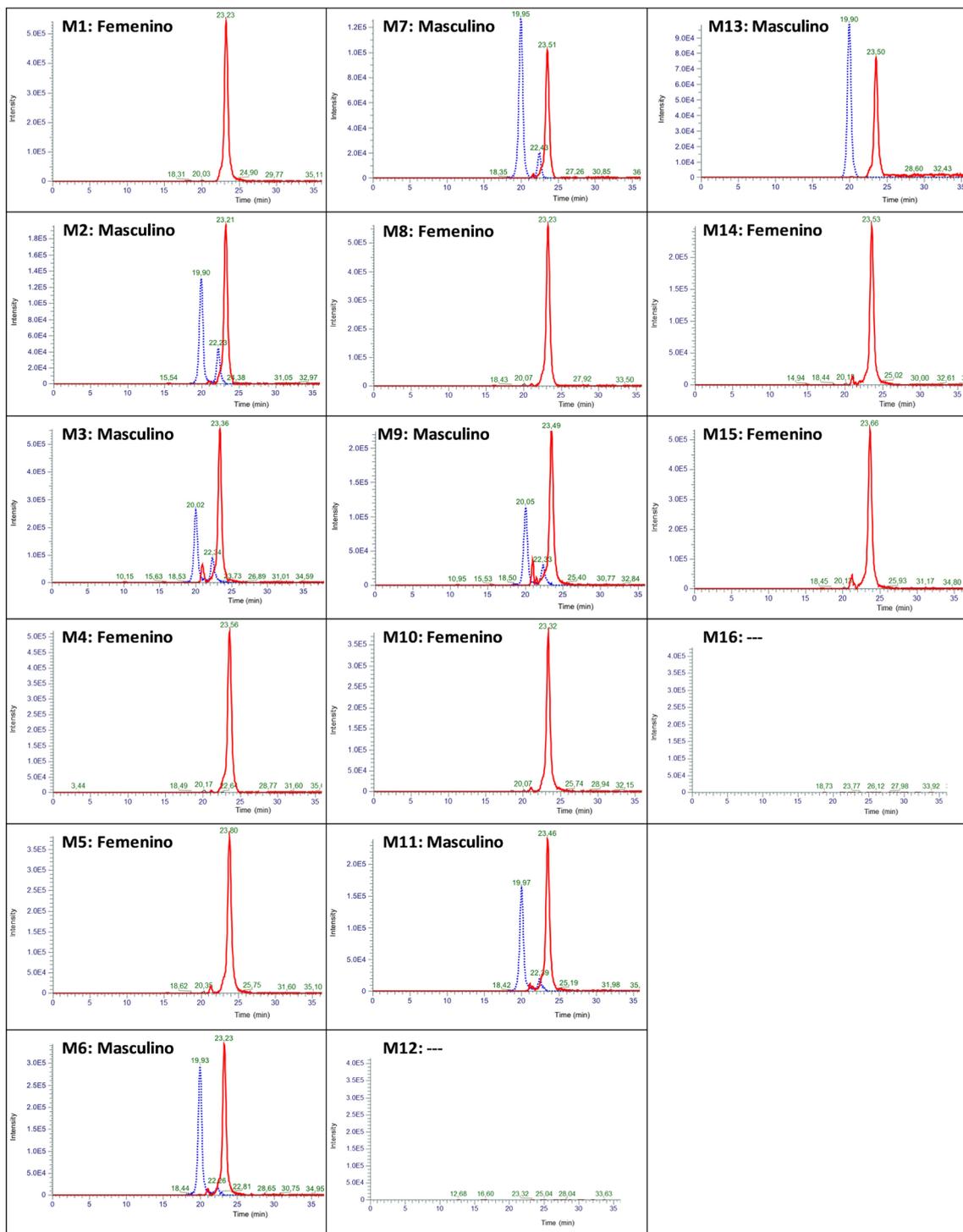


Fig. 2. Cromatogramas de las muestras analizadas para las relaciones m/z 540.2796 (AMELX, línea roja con trazo continuo) y 440.2233 (AMELY, línea azul con trazo discontinuo). El número de la muestra (M1-M16) y el sexo biológico se indican en cada cromatograma. En color en la versión electrónica.

suele ser más habitual en los individuos de sexo masculino en Cogotas I). La excepción que tras el primer diagnóstico constituía este enterramiento, ahora es corregida por el análisis proteómico, ayudando a una mejor comprensión de la norma del comportamiento mortuario de Cogotas I en su diversidad de manifestaciones arqueológicas.

4. CONSIDERACIONES DE CONJUNTO

4.1. Ventajas del análisis mediante LC-MS

a) Aplicabilidad: el esmalte dental es uno de los más resistentes tejidos del cuerpo humano, y la amelogenina químicamente estable, por lo que son muchas las posibilidades de disponer de muestras en yacimientos arqueológicos.

b) El procedimiento es de carácter no destructivo, ya que la preparación del diente y la consiguiente extracción de muestra suponen una mínima afectación, insignificante de cara a la conservación y, eventualmente, exhibición museística.

c) Destaca, como exponente de la aportación debida a esta metodología analítica que, además de los cinco casos confirmatorios de la estimación previa, ha servido para determinar el sexo de los ocho individuos de la muestra que no habían podido ser diagnosticados osteológicamente. No menor importancia reviste, de cara a posteriores comparaciones, la identificación como individuo masculino de uno que por su cráneo parecía más bien femenino

d) La confiabilidad de los resultados permite aprovechar la casi totalidad de la población estudiada, tanto los “indeterminados” –“pero ¿puede el sexo / género de una persona ser indeterminado?”, se preguntaba Wesp (2017: 105)– como los subadultos, segmentos cuya ausencia obstaculizaba por ejemplo las estimaciones demográficas. Además, el reconocimiento del sexo alcanza a todos los rangos de edad, desde los infantes de menos de un año a los adultos.

e) El análisis es relativamente sencillo de llevar a cabo, con una alta fiabilidad de los resultados debido a la elevada selectividad del espectrómetro de masas utilizado.

f) Seguramente sería interesante que se fueran publicando a la vez los resultados de sexo obtenidos mediante análisis basado en LC-MS y las posibles discrepancias con las determinaciones osteológicas antes realizadas, como se hace en Pany Kucera *et al.* (2020: 26). En nuestro caso, se limita a la de Barco de los Habares (Cuéllar) cuyo diagnóstico, como vimos, ofrecía cierta duda.

g) La revisión bibliográfica ha permitido advertir la aplicabilidad al campo de la Zooarqueología. Para

ciertos problemas –por ejemplo, conductas cazadoras y ganaderas, e incluso rituales, como la deposición selectiva de ciertos animales en enterramientos humanos–, la determinación del sexo puede resultar imprescindible, ya que los péptidos dimórficos de la amelogenina también se hallan presentes en la biogénesis de la dentición de la mayoría de los mamíferos.

4.2. El alcance temporal del método

En la Prehistoria de la península ibérica se ha verificado recientemente el alcance del método en un caso individual de *Homo antecessor* (Welker *et al.* 2020). El estudio actual está centrado en el grupo Cogotas I del Bronce Medio y Tardío de la submeseta norte. Pero, además de las muestras correspondientes a Cogotas I, se han incluido algunas procedentes también de yacimientos del mismo ámbito geográfico que se escalonan entre el Calcolítico y el Bronce Final, es decir entre el III milenio Cal AC y el comienzo del I milenio. El conjunto viene a corroborar la aplicabilidad del método en un amplio tramo cronológico, que va desde los 4065 ± 35 BP del varón de Soto de Tovilla (Tudela de Duero, Valladolid) hasta los 2710 ± 35 BP de la niña de unos seis años de Los Cuestos de la Estación (Benavente, Zamora), correspondiente al Periodo Formativo del grupo Soto de Medinilla (Bronce Final). Los restos humanos analizados (adultos, infantiles de pocos años y aun de pocos meses) provienen de hoyos rellenos de material de desecho o fosas funerarias, en yacimientos abiertos, ubicados en terrenos tanto arcillosos como calcáreos. Es decir, son sitios sometidos a procesos que podrían haber afectado a la preservación del esmalte dental y de la amelogenina, pero los resultados han sido positivos en un porcentaje del 87,5 %.

Los dos resultados fallidos corresponden a un diente completamente erosionado y otro que habría sido sometido a la acción del fuego, ambos incluidos expresamente con el fin de aquilatar el método. Se ha publicado un caso donde se analizaron con éxito dos piezas sometidas a cremación (Buonasera *et al.* 2020), pero consignamos que son mucho más recientes: proceden de un yacimiento californiano datado entre los siglos XIV-XIX d.C. En todo caso, este estudio ha puesto de manifiesto un elevado porcentaje de éxito en material de distinta antigüedad y, lo que puede ser más interesante, procedente de contextos dispares que se han visto sometidos a condiciones tafonómicas diversas. Además de corroborar la especial resistencia del esmalte a los procesos posdeposicionales, muestra que el método empleado se ve poco condicionado por la variabilidad registrada en la serie sometida a estudio.

4.3. Aportaciones a la investigación prehistórica de la submeseta norte

El lote que presentamos es reducido, pero parece posible extraer algunas impresiones útiles para el análisis de los fenómenos funerarios de Cogotas I y otros momentos de la Prehistoria Reciente de la región.

En el ámbito del Calcolítico Inicial, el resultado masculino de la determinación del individuo de Soto de Tovilla (Tudela de Duero) apuntala las sugerencias que, sobre la base de la estimación antropológica, se hicieron en la primera publicación (Esparza *et al.* 2008): predominio de los varones en la población enterrada, colocación con arreglo al sexo (decúbito lateral izquierdo) y relación entre sexo y tipo de violencia que acarreó la muerte. Ese refuerzo coadyuva a la detección de pautas generales, necesitadas de esta firme fundamentación.

El resultado obtenido para el Vaso Campaniforme en relación con el individuo de Perro Alto (Fuente Olmedo) es relevante. El análisis de ADN no pudo certificar su estimación bioantropológica como varón como sí ha hecho ahora la determinación proteómica. Se cuenta así con un dato sólido para la tumba más conspicua del grupo Ciempozuelos –y “la más importante concentración de riqueza individual atestiguada en el Calcolítico de la Península Ibérica”, al decir de Harrison (1980: 142)–, contribuyendo así a la problemática de la emergencia de la individualidad masculina o, mejor, de un tipo nuevo de identidad relacional (Hernando 2002: 160-1), clave en el proceso de la subordinación femenina (Hernando 2013).

Pero para avanzar en este complicado terreno resulta crucial la determinación del sexo biológico (y la ulterior identificación del género) de todos los individuos del Campaniforme, dada la creciente variabilidad de los hallazgos. Cada vez hay más enterramientos de probable adscripción a mujeres –por ejemplo en el Valle del Tajo (Liesau *et al.* 2015; Barroso *et al.* 2018)–, y no solo en enterramientos múltiples, sino también en los singulares, que pudieran ser tomados por indicios de identidad individual. Además, los elementos típicos del acompañamiento funerario campaniforme –cerámica, adornos, metal e incluso armas– se asocian a varones y mujeres. En esa heterogeneidad, se ven implicados también individuos infantiles –como en la covacha UE87 de la tumba 7055 de la necrópolis de El Seminario, en Huelva, donde un esqueleto infantil de 6-7 años estaba acompañado por cerámica, puñal de lengüeta y “brazal de arquero” (Linares y Vera 2015: 282)–, por lo que no es baladí el detalle de si se trata de niños o niñas. Una nueva invitación al análisis de conjunto de todos los atributos, incluyendo el sexo.

La mandíbula de Los Tolmos, inédita hasta el presente, y radiométricamente asignable al Bronce Anti-

guo, ha resultado ser femenina, y por su posición estratigráfica podría haber sido una reliquia en el poblado del Proto-Cogotas I². De ser así, resultaría sugerente relacionar esa vieja mandíbula de niña con los casos de ‘reliquias cogotenses’ (Esparza *et al.* 2018: 363-4), que posiblemente eran de mujeres fallecidas con anterioridad, constituyendo tal vez enlaces ancestrales, reales o ficticios.

Pasando a Cogotas I, la importancia de la estimación del sexo se ve acrecentada por dos hechos. El primero es que, prácticamente la mitad de los depósitos con restos humanos de Cogotas I identificados en la meseta norte corresponden a subadultos, esto es, individuos cuya edad de muerte convierte el diagnóstico certero del sexo osteológico en una tarea sumamente complicada. El segundo hecho es la elevada frecuencia de depósitos secundarios, e incluso terciarios, que repercute en una reducida cantidad y calidad de los elementos esqueléticos susceptibles de proporcionar el ansiado diagnóstico sexual. En tan problemático ámbito, este trabajo ha conseguido un notable avance en cuanto al conjunto total de individuos conocidos, al establecer el sexo de 6 individuos infantiles, así como de 4 adultos. Tres de estos últimos han resultado confirmatorios y solamente uno ha venido a corregir, como vimos, el inseguro diagnóstico bioantropológico. En esta serie hay una cuantía ligeramente superior de las niñas entre los subadultos, pero si sumamos los de este trabajo con los subadultos sexados a partir de su análisis genético³ (Olalde *et al.* 2019), la representación de individuos masculinos y femeninos en toda la serie viene a ser proporcional, como también lo es en apariencia cuando se divide por grupos de edad.

Además, se confirma que los adultos y los subadultos encajan, independientemente del sexo, en el complejo escenario mortuario en el que están presentes depósitos primarios y secundarios. Ellos y ellas reciben similar tratamiento, integrándose en la variada casuística que abarca exposición, inhumación y manipulación/circulación de restos (Esparza *et al.* 2020). Incluso en los casos singulares de infantiles acompañados por el hueso de un adulto presumiblemente más antiguo –una reliquia acompañante, se ha propuesto (Esparza *et al.* 2018)–, no parece haber un sexo preferente para el que se reserve esta práctica. En definitiva, sigue en pie la sospecha de que en Cogotas I el reclutamiento de los enterrados, que no se rige por edades o estatus, ni

² Alejandra Sánchez Polo. *Una cotidianeidad ritualizada: formas de racionalidad prehistórica durante el Bronce Medio en la Submeseta Norte*. Tesis doctoral inédita, defendida en la Universidad de Salamanca en octubre de 2021.

³ Sara Palomo Díez. *Caracterización genética de las poblaciones de las Edades del Cobre y del Bronce de la Submeseta Norte de la Península Ibérica*. Tesis doctoral inédita, defendida en la Universidad Complutense de Madrid en septiembre de 2015.

tampoco por sexos, estaría más bien en relación con la forma o condiciones de muerte –la ‘mala muerte’–, aunque no puede olvidarse la excepcional ausencia, hasta el momento, de fallecidos antes de los primeros seis meses de vida.

En este ámbito de Cogotas I, se ha tratado de superar la desconfianza expresada por Geller (2008: 126) acerca de la determinación del sexo de los subadultos mediante pruebas genéticas, porque pasaría por alto o minimizaría los procesos de socialización. Esta primera contribución es solo un paso previo para el estudio de la configuración de expresiones de género, que parecen materializarse en la posición de inhumación de los adultos: hay una tendencia –decúbito lateral derecho para los varones e izquierdo para las mujeres (Esparza *et al.* 2012a: 281-2)– que no terminaba de contar con suficiente convalidación estadística debido a la ambigüedad de muchos esqueletos, especialmente de subadultos, que constituyen un efectivo no pequeño dentro del total. Ahora, la estimación proteómica del sexo de los subadultos, y especialmente de los inhumados infantiles, combinada también con los grupos de edades, permitirá esclarecer si, como se sospecha, había un género por defecto –o ninguna pertenencia a género– hasta cierta edad, a partir de la cual se produciría la asunción de identidades de género, con sus expresiones sociales.

Los resultados obtenidos en El Barco de los Hombres (Cuéllar) y El Tablón (Alaejos) vendrían a confirmar la tendencia cogotense hacia el decúbito lateral en relación con el sexo (M/derecho; F/izquierdo). Las comparaciones no cuentan todavía con aval estadístico, pero habría casos divergentes en el Calcolítico y también en el Campaniforme regionales. En cambio, la tendencia de Cogotas I parece invertida en relación con las pautas de otras áreas culturales peninsulares, como la argárica (Lull *et al.* 2016) o la manchega de las Motillas (Nájera *et al.* 2010), contraste que reclama profundizar en estos aspectos por sus implicaciones culturales y sociales.

Cierra el conjunto analizado una muestra dental procedente de un fragmento de mandíbula infantil hallada en la unidad estratigráfica más antigua del poblado de Los Cuestos de La Estación (Benavente), correspondiente al Periodo Formativo del Soto de Medinilla (Esparza *et al.* 2016). Para esta etapa cronocultural, ubicada en el Bronce Final regional, no se conocen sepulturas, ni siquiera las infantiles que caracterizarán la fase Soto Pleno. En realidad, únicamente se han hallado algunos restos humanos fragmentarios, fuera de estructuras y entremezclados con los huesos de fauna, habiendo sufrido, como estos, mordeduras de cánidos y alteraciones térmicas y erosivas. Por eso se ha supuesto que las comunidades de esta época llevaron a cabo conductas de manipulación de restos humanos

que podrían indicar continuidad con ciertas prácticas de Cogotas I (Esparza *et al.* 2016: 80). Anotamos que la muestra infantil de Benavente ha resultado ser de niña, como también sería de mujer el fémur hallado, también entre la fauna, en otra unidad de la misma fase de ocupación.

Con la prudencia que impone un efectivo tan exiguo, quedará aparcada la suposición de que ciertos comportamientos relacionados con la muerte –en particular los que parecen conllevar la circulación de restos esqueléticos– tenían a mujeres como objeto preferente en las distintas fases de la Edad del Bronce Antiguo, Medio-Tardío y Final, como ya lo fueron en el Calcolítico, a juzgar por los cráneos, también femeninos de Mucientes (García Barrios 2017; Palomo Díez *et al.* 2017)

5. UNA REFLEXIÓN FINAL: LA CONTROVERTIDA CATEGORÍA DEL SEXO

Este trabajo, de índole eminentemente analítica y centrado en el ámbito de la Prehistoria, bien pudiera haber finalizado con el párrafo anterior. Pero la existencia de una fuerte corriente relacionada con la teoría *queer*, muy crítica con investigaciones en las que se contienen conceptos como el de sexo biológico, hacía necesaria una reflexión sobre las categorías que se emplean en los análisis bioarqueológicos y proteómicos. En la investigación española con marcado componente de arqueometría hay ya dos trabajos muy recientes sobre Neolítico y Calcolítico que han empezado a introducir esta problemática. El de Soriano *et al.* (2021) expone con cierto detalle la cuestión teórica y sus derivaciones, pero tropieza con el problema de la detección del sexo. El de Masclans *et al.* (2021) propone un método más elaborado para avanzar hacia el reconocimiento de géneros sin explicitar las implicaciones de dicha teoría. Así pues, llevar a cabo una investigación que establezca el sexo, femenino o masculino, de los restos humanos a partir del esmalte de sus dientes, que pudiera ser tildada de ‘binarismo’, nos impulsó a efectuar algunas consideraciones para justificar la posición finalmente adoptada.

5.1. El sexo biológico

No se nos oculta que en la clasificación binaria de sexos subyace un inveterado contenido cultural, cuestionado hace ya tiempo en el campo de la arqueología. Así, cuando a finales de los años 1980 parecía consolidado el binomio teórico sexo/género –entendiendo el segundo como la elaboración cultural de la dicotomía sexual–, una parte de la crítica feminista, encabezada

por Butler (1990: 7), avanzó al rechazarlo radicalmente ya que “quizás este constructo llamado ‘sexo’ esté tan construido culturalmente como el género; de hecho, tal vez ya haya sido siempre género, con la consecuencia de que la distinción entre sexo y género resulta no ser una distinción en absoluto”. Entonces, el sexo “natural”, binario, aparentemente prediscursivo, sería en realidad el resultado del aparato cultural denominado género, es decir que el sexo no existe con antelación, sino que es designado y construido desde las categorías de género (Butler 1990: 7). En esa línea, la asignación de sexo a una criatura recién nacida por parte de parientes, parteras o médicos acabará siendo considerada un acto ‘performativo’.

La crítica de fondo se dirigía hacia la concepción del sexo como un hecho biológico con dos únicas expresiones, masculino y femenino, del que derivarían las manifestaciones culturales denominadas género, cuando los dos sexos habrían sido más bien categorizados a partir de los dos géneros predominantes. En tal sentido, muchas arqueólogas han incidido en la carga ideológica subyacente en la concepción binaria del sexo (p. ej., Claasen 1992). Geller (2008: 127) sin negar la realidad de las diferencias biológicas, se dirige contra una simplista dicotomía presentada como natural e invariable y contra las interpretaciones acerca del pasado presentistas, androcéntricas y heteronormativas.

En la práctica subsisten las dificultades, precisamente a la hora de determinar los restos óseos humanos, siendo sintomático que muchos de los trabajos abiertos a la posibilidad de un tercer género u otros géneros no binarios (p. ej., Schmidt 2005; Turek 2017) partan de las determinaciones osteológicas tradicionales. No es de extrañar, por tanto, que en el ámbito de la osteología/ bioarqueología, se haya mantenido la validez de la primera división, como ejemplifica la definición de la antropóloga forense Soren Blau (2014): *The sex of an individual is a biologically determined variable and differs from the gender of a person which is a social construct*. Por su parte, Sofaer (2006b: 158) sostiene —no sin apuntar que muchos de quienes rechazan la validez del sexo como categoría analítica nunca han tenido que vérselas con esqueletos— que la aproximación osteológica pueda ser una forma de construcción cultural, pero es sin duda una forma eficaz de abordar la realidad material del sexo y tiene un claro papel por suministrar categorías que pueden ser investigadas en términos de su relevancia social. Insiste esta autora (Sofaer 2006b: 157) en la validez del método de evaluación osteológica, cuyas cinco categorías no constituyen una gradación de sexos, sino una ordenación de estimaciones por grados de certeza.

Esta línea bioarqueológica adopta posiciones cada vez más abiertas hacia los aspectos socioculturales que interactúan con lo biológico (Sofaer 2006a, 2006b,

2013; Robb 2019; Boucherie 2021), pero insistiendo siempre en la necesidad de una muy rigurosa estimación del sexo en el primer momento de la investigación, a seguir por su combinación con el resto de información arqueológica, estadísticamente tratada. En este segundo momento incluye datos osteológicos como la edad, o los relativos a entesopatías como indicadores de la actividad física realizada.

5.2. Sexo cromosómico (y proteómico): ¿naturalización del sexo binario desde las arqueociencias?

La parte de la arqueología feminista más vinculada a la teoría *queer* ha recurrido a la genética, en direcciones diferentes. Por un lado, argumenta (p. ej., Geller 2008: 126) que la caracterización de variaciones cromosómicas no binarias —individuos con cariotipo X0, XXY, XXX, XYY, XXXX, etc.— viene a respaldar la existencia de más de dos categorías de sexos (hasta cinco había propuesto Fausto-Sterling 1993), pero también denuncia a las investigaciones arqueogenéticas por promover nociones naturalizadoras sobre el género (Geller 2017: 73). Llega incluso a tildar de ‘performativos’ los procedimientos moleculares de determinación del sexo, como actos técnicos y discursivos que deciden qué restos humanos son masculinos o femeninos (Geller 2017: 88). Era necesario, pues, asumir estas observaciones en relación con nuestra pretensión inicial.

Ciertamente, está bastante extendida la idea según la cual desde la fecundación habría ya una determinación completa y definitiva del sexo: los portadores de un cromosoma materno X y otro paterno X serían individuos femeninos, siendo masculinos los del par XY. En realidad se trata más bien de todo un proceso en cascada (*vid.*, p. ej., Solari 2011: caps. 10 y 17; Díaz-Hernández y Merchant-Larios 2017; Legato 2020), en el cual, tras la fecundación y la temprana formación de una gónada indiferenciada, de potencial bisexual, se producirá el desarrollo ovárico a partir de los genes del cromosoma X; o el testicular —en este caso por la expresión del gen SRY y otros del cromosoma Y— y, finalmente, el sexo fenotípico con la diferenciación de los genitales externos. Las más de las veces coinciden sexo cromosómico, gonadal y genital, pero en tan complejo y delicado proceso, regido por la interacción y el equilibrio entre genes, se producen con cierta frecuencia modificaciones —debidas a mutaciones, translocación, deleción o borrado, mosaicismo, alteraciones de los cromosomas sexuales, como monosomía (X0) o polisomías (XXX, XXY, XYY, XXXY, XYYY, XXXXY), deficiencias en respuestas hormonales, insuficiencia enzimática, etc.—. Esas modificaciones sue-

len conllevar divergencias entre sexo cromosómico y sexo gonadal, o entre los genitales internos y externos, esto es, los *Disorders of Sexual Development* (DSD, hoy Desarrollo Sexual Diverso), que incluyen las variantes que anteriormente se denominaban intersexualidad, hermafroditismo y pseudohermafroditismos. Por eso se propende actualmente a una redefinición del sexo no en términos binarios sino más bien como un espectro (Ainsworth 2015).

Dejando a un lado los abundantes testimonios históricos y etnográficos, y ciñéndonos al ámbito arqueológico, la existencia de DSD no es una mera especulación, como testimonian algunas publicaciones recientes. Por ejemplo, el esqueleto 311 del enterramiento britano-romano de Harper Road (Londres), estimado como femenino por su análisis osteológico, concordante con el ajuar hallado en la sepultura, ha sido genotipado como XY (Redfern *et al.* 2017). El análisis de ADN ha modificado también la interpretación de una tumba de la Finlandia altomedieval, excavada en 1968, perteneciente a una mujer inhumada con su vestimenta y adornos, así como dos espadas, que ahora se propone (Moilanen *et al.* 2021) como un individuo masculino probablemente con aneuploidia XXY (síndrome de Klinefelter). La existencia de posibles “individuos intersexuales” ha sido planteada también para el Campaniforme de la península ibérica por Soriano *et al.* (2021) utilizando la comparación de secuencias alineadas de los cromosomas sexuales resultantes del trabajo de Olalde *et al.* (2018), aunque sin detectar ningún caso en el exiguo lote muestral disponible.

Con todo, no se puede sobrevalorar el peso cuantitativo de los DSD. En los trabajos señeros de Fausto-Sterling (2000), coautora de Blackless *et al.* 2000, se estableció en 1,728 el porcentaje de nacimientos de personas “intersexuales”, cifra que ha alcanzado enorme difusión, aunque a la vista del tipo de estadísticas disponibles entonces, ya se advirtió que esa cifra debía ser tomada como una estimación de orden de magnitud, mejor que como un recuento preciso (Fausto-Sterling 2000: 51).

En realidad, para un experimento con la orientación específica del nuestro debe tenerse en cuenta que las tablas de porcentajes de prevalencia de los citados trabajos incluyen como intersexuales a personas con hipoplasia adenocortical no congénita (NCAH), que alcanza nada menos que el 1,5 en porcentaje (Fausto-Sterling 2000: 53 y tab. 3.2; Blackless *et al.* 2000: 153 y tab. 8). Pero en realidad, esta anomalía genética no se relaciona con los cromosomas sexuales, sino con un gen del cromosoma 6 que produce exceso de andrógenos (“virilización”) en individuos femeninos, con XX indudable. Por ello, los genitales al nacer no presentan ninguna ambigüedad, mientras que los signos clínicos se presentarán más tardíamente, al final de la niñez o

en la adolescencia, con aparición prematura del vello púbico, hirsutismo, disfunción menstrual, etc. (Witchel y Azziz 2010). Estudiando esqueletos, y sobre todo en un análisis proteómico dirigido a detectar AMELX o AMELY, tales personas no deben ser consideradas como “intersexuales” ya que nuestra investigación las detectaría como niñas, muchachas o mujeres. Nos alineamos así con otros trabajos relativos al problema de las prevalencias⁴ y, en el terreno de la bioarqueología, por ejemplo, con Sofaer (2013: 230) quien ya recogía que “la frecuencia total de genotipos que no son XX o XY en las poblaciones modernas promedia sólo el 0,193 por ciento de los nacidos vivos”, bien diferente de aquel total de 1,7 % “intersex”.

Por su parte, Brown y Brown (2011: tab. 10.2) exploraron específicamente el problema que los DSD pudieran suponer para la detección del gen de la amelogenina en las PCR. Descartaron una parte importante (síndrome de Turner, la mayoría de los casos de Klinefelter, y polisomías XXXY, XXYY, XXXXY, etc., cuyo sexo cromosómico sería concordante con el osteológico), permaneciendo en cambio para variantes como aquellas donde se produce la delección o borrado de AMELY, que dan como resultado F siendo en realidad M. Este inconveniente –que acaba de ser señalado precisamente para el análisis proteómico de AMEL por Štamfelj (2021)– ha sido afrontado por Parker *et al.* (2021b) quienes, tras revisar los datos de dos proyectos genómicos de alta calidad que cubren miles de individuos de distintos continentes, concluyen que, salvo en algunas poblaciones de Asia Meridional afectadas de forma sistemática, no parece razonable considerar la hipótesis de la delección del AMELY en las investigaciones rutinarias del sexo proteómico. En definitiva, el problema quedaría bastante circunscrito a los casos de mujeres XY y varones XX, con una prevalencia del 0,004 % y 0,005 % respectivamente; y a los distintos DSD antes denominados hermafroditismo y pseudohermafroditismos masculino y femenino, cuyas pre-

⁴ Como señalan Garofalo y Garvin (2020), las estadísticas de prevalencia muestran una gran variación, entre otras razones por la discrepancia en la definición de DSD. Es muy ilustrativa la información disponible en el banco de datos EUROCAT (*European Surveillance of Congenital Anomalies*): el diagnóstico prenatal controlando 2,35 millones de nacimientos producidos entre 2000 y 2006 en once países europeos arroja una prevalencia de las anomalías cromosómicas totales del 0,43 %, y del 0,074 % el de las consideradas raras; las trisomías de los cromosomas sexuales serían 0,02 %, y las delecciones, el 0,001-0,002 % (*vid.* Wellesley *et al.* 2012). Un reciente estudio epidemiológico (Berglund *et al.* 2020) llevado a cabo sobre varios tipos de DSD (XO, XXY, XXX, XYY) basado en datos de Dinamarca, Suecia y Reino Unido arroja también cifras de prevalencia muchísimo más bajas que las que había publicado Fausto-Sterling. Más allá de su precisión y vigencia debe reconocerse que la cifra de esta autora ha tenido gran importancia para la crítica feminista por haber servido como apoyo científico a la idea de sexos no binarios y en última instancia para la completa reconsideración de los procedimientos de “cirugía correctiva”.

valencias se calculan en torno al 0,005 % (Brown y Brown 2011: 161).

A pesar de tan bajos porcentajes, hay que guardar alguna cautela, relativa a eventuales avances analíticos. Pero, por el momento, salvo el mencionado trabajo sobre el problema de la delección de AMELY (Parker *et al.* 2021b) o la alusión a futuros trabajos (Stewart *et al.* 2017: 6) no parece haberse planteado como objetivo específico la detección de DSD en los análisis proteómicos del esmalte dental, una posibilidad que, en cambio, ya está al alcance de las técnicas que tipifican el ADN mediante QF-PCR. En efecto, en las muy exigentes investigaciones de índole clínica o forense, han podido detectarse algunas de las anomalías de los cromosomas sexuales, por ejemplo, XXY, XYY, a partir de los contrastes en la ratio AMELY/AMELX (Plaseska-Karanfilska *et al.* 2011: 211-213), mientras que otras, como las de varones XX se detectan recurriendo a otros marcadores, como SRY.

5.3. La decisión adoptada

Recapitulamos los argumentos para justificar la decisión final de llevar a cabo y publicar nuestro ensayo: a) la muy matizada posición expuesta por las anatomistas Garofalo y Garvin (2020) acerca de la estimación del sexo biológico a partir de las diferencias en el esqueleto humano que resultan de la dotación cromosómica individual y las hormonas asociadas; b) en la literatura especializada en osteología/bioarqueología se advierte un rechazo de la visión del sexo como mera construcción discursiva, concibiéndolo más bien como una base material que interviene en la formación de los cuerpos en un largo proceso, desde las estructuras embrionarias a la pubertad especialmente, y hasta en la senectud, sin olvidar otras implicaciones, por ejemplo la morbilidad diferencial por sexos⁵; c) hay un amplio consenso en considerar el sexo como elemento imprescindible en la aproximación osteológica, que trabaja con ciertos rasgos esqueléticos que contrastan, aunque no de forma dicotómica, entre varones y mujeres: como resumía Sofaer, “no se puede decir que las diferencias osteológicas no constituyen un eje de análisis útil” en orden a escrutar la importancia potencial del sexo biológico para los grupos humanos del pasado (Sofaer 2006a: 96; 2006b: 158); d) reconociendo sin reservas la existencia de DSD, se ha tenido en cuenta su muy

⁵ En el ámbito de la fisiología, al propugnar la necesaria integración del sexo biológico como variable en el diseño investigador, Miguel-Aliaga (2019) advierte la importancia, también entre los humanos, de las diferencias entre los sexos, no todas las cuales se construyen socialmente. Como la autora señala, tanto sexo como género pueden traducirse de forma independiente o sinérgicamente, en factores de riesgos patológicos.

limitada frecuencia –en especial puede suponerse en poblaciones de escasa cuantía– y también el hecho de que algunas de sus manifestaciones solamente serían perceptibles a partir de la pubertad; e) el enorme avance que supone para los análisis bioantropológicos la reducción de la incertidumbre, al contar con una información que permite superar los diagnósticos, hasta hoy preponderantes, de “posible F”, “posible M”, “indeterminado” –injustificadamente minusvalorados, según la literatura crítica–, y permitiría contar con todos los subadultos; f) finalmente, ¿puede dejarse sin utilizar un instrumento de claro valor heurístico, una fuente de datos que posibilita la exploración de hipótesis?

De la revisión bibliográfica se desprenden algunos serios avisos: el conocimiento del “sexo proteómico” no puede convertirse en una Gran Divisoria que compartimente el manejo de los restantes atributos arqueológicos, y menos aún el que se haga una traslación inmediata a géneros binarios. Por ello, se puede terminar dando cuenta de algún trabajo en cuya estela podríamos situarnos. Así Masclans *et al.* (2021), tras repasar la bibliografía crítica sobre sexo biológico, concluyen que la posición anteriormente citada de Butler (1990) “crea ciertos problemas analíticos en la arqueología” (Masclans *et al.* 2021: 233), sin más detalle. Eso, sí, en su investigación aportan un modelo de trabajo, cruzando las referencias sexuales de los esqueletos (M, F e Indet.) con la distribución espacial, los objetos de acompañamiento, los datos isotópicos de dieta y movilidad, los indicadores de las distintas actividades económicas, etc., mediante análisis de conglomerados que permite caracterizar las formas de vida por géneros, en busca, entre otros objetivos, de la relación entre sexo y división del trabajo, superando las tradicionales asignaciones implícitas.

5.4. Final

La posibilidad de anomalías cromosómicas –aunque tal vez muy escasa en una población, como la cogotense, que debió de ser numéricamente reducida– y sus correlativos síndromes como los de Turner, Klinefelter, etc. supone en nuestro campo una advertencia para intensificar la atención a ciertos rasgos craneofaciales, taurodontismo, estatura, proporciones entre extremidades, etc., a combinar con el dato del sexo. Dado que bajo la hipótesis de la buena/mala muerte se sospecha que ‘todos’ los enterramientos de Cogotas I son anómalos (Esparza *et al.* 2012a: 299-300), sería posible que algunos pudieran corresponder a individuos de características especiales.

La inquestionable existencia de esa posible diversidad no debe llevar a una generalización abusiva, a interpretar como DSD cualquier anomalía observada

arqueológicamente. Así, en un reciente trabajo sobre la inhumación triple de Los Tolmos (Caracena, Soria), para el caso de un esqueleto femenino enterrado sobre el costado derecho, se han sugerido otras hipótesis plausibles, como la de un tercer género o también la asunción por parte de una mujer de un rol habitualmente masculino (Esparza *et al.* 2017: 218).

En definitiva, se trata de evitar un traslado directo al género de los datos sobre sexo para no incurrir en la ‘genetización del género’ (Geller 2017), un error que rebajaría notablemente la innegable aportación que, para el campo de la arqueología, y especialmente para la Prehistoria, supone –como punto de arranque y con la expresada cautela– el análisis proteómico del esmalte dental.

AGRADECIMIENTOS

A la Consejería de Cultura de la Junta de Castilla y León, por los permisos concedidos para el trabajo en los Museos de la Comunidad Autónoma. A los colegas que nos han ayudado con los restos humanos de los que proceden algunas de las muestras: Miguel Ángel Arnáiz Alonso, Luis Caro Dobón, Manuel Crespo Díez, Pedro Javier Cruz Sánchez, Germán Delibes de Castro y Alonso Domínguez Bolaños. A la Dra. Pilar García Morriño, por habernos facilitado la puesta a punto de nuestro análisis, y a Verónica Alberto Barroso por el *abstract*. Los autores agradecen al Servicio de Espectrometría de Masas (Nucleus) de la Universidad de Salamanca su valiosa ayuda, lo mismo que a los revisores anónimos.

BIBLIOGRAFÍA

- Ainsworth, C. 2015: “Sex redefined”. *Nature* 518, 288-291. <https://doi.org/10.1038/518288a>
- Alemán Aguilera, I.; Botella López, M. y Ruiz Rodríguez, L. 1997: “Determinación del sexo en el esqueleto postcraneal. Estudio de una población actual”. *Archivo Español de Morfología* 2: 69-79.
- Alemán Aguilera, I.; Botella López, M. C. y Souich Henrici, Ph. du 1999: “Aplicación de las funciones discriminantes en la determinación del sexo”. *Estudios de Antropología Biológica* 9: 221-230.
- Arnáiz Alonso, M. A. y Montero Gutiérrez, J. 2008: “El registro funerario de Tres Chupos-Abarre (Villegas, Burgos). Problemática y perspectivas en el estudio de las prácticas rituales de Cogotas I”. *Férvedes* 5: 237-246.
- Barroso Bermejo, R.; Ramírez, P.; González Martín, A.; Balbin-Behrmann, R. de y Rodríguez, J. 2018: “Tumbas, materialidad y maternidad en los enterramientos de mujeres con Campaniforme: dos casos de estudio del valle medio del Tajo”. *Complutum* 29 (2): 319-337. <https://doi.org/10.5209/cmpl.62583>
- Bass, W. M. 2003: *Human osteology, A laboratory and field manual*. Missouri Archaeological Society, Columbia.
- Berglund, A.; Stochholm, K. y Højbjerg Gravholt, C. 2020: “The epidemiology of sex chromosome abnormalities”. *American Journal of Medical Genetics* 184C: 202-215. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31805>
- Bertsatos, A.; Chovalopoulou, M. E.; Brůžek, J. y Bejdrová, Š. 2020: “Advanced procedures for skull sex estimation using sexually dimorphic morphometric features”. *International Journal of Legal Medicine* 134: 1927-1937. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02334-9>
- Bethard, J. D. y VanSickle, C. 2020: “Applications of sex estimation in paleoanthropology, bioarchaeology, and forensic anthropology”. En A. Klales (ed.): *Sex estimation of the human skeleton: History, methods, and emerging techniques*. Academic Press, London: 25-34.
- Blackless, M.; Charuvastra, A.; Derryc, A.; Fausto-Sterling, A.; Lauzanne, K. y Lee, E. 2000: “How sexually dimorphic are we? Review and synthesis”. *American Journal of Human Biology* 12: 151-166. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1520-6300\(200003/04\)12:2<151::aid-ajhb1>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1520-6300(200003/04)12:2<151::aid-ajhb1>3.0.co;2-f)
- Blau, S. 2014: “Sex Assessment”. En C. Smith (ed.): *Encyclopedia of Global Archaeology*. Springer, New York: 6590-6594. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0465-2_140
- Boucherie, A. 2021: “Approche archéo-anthropologique d’ensembles funéraires: question de sexe biologique ou de genre?”. En I. Algrain (ed.): *Archéologie du genre - Construction sociale des identités et culture matérielle*. Université des Femmes, Bruxelles: 41-59.
- Bouwman, A.; Brown, K.; Prag, J. y Brown, T. 2008: “Kinship between burials from Grave Circle B at Mycenae revealed by ancient DNA typing”. *Journal of Archaeological Science* 35: 2580-2584. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2008.04.010>
- Brown, T. y Brown, K. 2011: *Biomolecular Archaeology. An introduction*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Bruzek, J. 2002: “A method for visual determination of sex, using the human hip bone”. *American Journal of Physical Anthropology* 117(2): 157-68. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10012>
- Bruzek, J.; Santos, F.; Dutailly, B.; Murail, P. y Cunha, E. 2017: “Validation and reliability of the sex estimation of the human os coxae using freely available DSP2 software for bioarchaeology and forensic anthropology”. *American Journal of Physical Anthropology* 164: 440-449. <https://doi.org/10.1002/ajpa.23282>
- Buikstra, J. E. y Ubelaker, D. H. (eds.) 1994: *Standards for data collection from human skeletal remains*. Proceedings of a Seminar at the Field Museum of Natural History, Arkansas Archaeological Survey Press, Fayetteville.
- Buonasera, T.; Eerkens J.; de Flamingh, A.; Engbring L.; Yip J.; Li, H... y Parker, G. 2020: “Comparison of proteomic, genomic, and osteological methods of archaeological sex estimation”. *Scientific Reports* 10 (1): 11897. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68550-w>
- Butler, J. 1990: *Gender trouble: Feminism and the subversion of identity*. Routledge, New York.
- Caro Dobón, L. y Fernández Suárez, M.^a 2007: “Enterramiento en fosa del Bronce Final en la ciudad de Zamora”. En F. J. Barca Durán y J. Jiménez Ávila (eds.): *Enfermedad, muerte y cultura en las sociedades del pasado. Actas del VIII Congreso Nacional de Paleopatología (Cáceres 2005)*. Fundación Academia Europea e Iberoamericana de Yuste. Yuste: 91-100.
- Claasen, Ch. 1992: “Questioning gender: An introduction”. En Ch. Claasen (ed.): *Exploring gender through Archaeology*. Prehistoric Press, Madison: 1-9.
- Daskalaki, E.; Anderung, C.; Humphrey, L. y Götherström, A. 2011: “Further developments in molecular sex assignment: A blind test of 18th and 19th century human skeletons”. *Journal of Archaeological Science* 38(6): 1326-1330. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.01.009>
- Díaz-Hernández, V. y Merchant-Larios, H. 2017: “Consideraciones generales en el establecimiento del sexo en mamíferos”. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas* 20 (1): 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2016.11.003>
- Esparza Arroyo, A.; Delibes de Castro, G.; Velasco Vázquez, J. y Cruz Sánchez, P. 2008: “Historia de un golpe en la cabeza: sobre el enterramiento calcolítico del Hoyo 197 de ‘El Soto de Tovilla’ (Tudela de Duero, Valladolid)”. *Boletín del Seminario de Arte y Arqueología LXXIV*: 9-48.
- Esparza, A.; Palomo Díez, S.; Velasco Vázquez, J.; Delibes, G.; Arroyo Pardo, E. y Salazar García, D. C. 2017: “Familiar Kinship? Palaeogenetic and isotopic evidence from a triple burial of the Cogotas I archaeological culture (Bronze Age, Iberian Peninsula)”. *Oxford Journal of Archaeology* 36: 223-242. <https://doi.org/10.1111/ojoa.12113>

- Esparza-Arroyo, A.; Sánchez-Polo, A. y Velasco-Vázquez, J. 2018: "Damaged burials or reliquia Cogotenses? On the accompanying human bones in burial pits belonging to the Iberian Bronze Age". *Archaeologies: Journal of the World Archaeological Congress* 14 (3): 346-376. <https://doi.org/10.1007/s11759-018-9351-0>
- Esparza Arroyo, A.; Velasco Vázquez, J. y Celis Sánchez J. 2016. "Notas sobre la fase "Soto Formativo" en el poblado de Los Cuestos de la Estación (Benavente, Zamora)". *Boletín del Seminario de Arte y Arqueología* 82: 63-85.
- Esparza Arroyo, A.; Velasco Vázquez, J. y Delibes de Castro, G. 2012a: "HUM 2005-00139: Planteamiento y primeros resultados de un proyecto de investigación sobre la muerte en Cogotas I". En J. A. Rodríguez Marcos y J. Fernández-Manzano (eds.): *Cogotas I. Una cultura de la Edad del Bronce en la Península Ibérica*. Universidad de Valladolid-Junta de Castilla y León. Valladolid: 259-322.
- Esparza Arroyo, A.; Velasco Vázquez, J. y Delibes de Castro, G. 2012b: "Exposición de cadáveres en el yacimiento de Tordillos (Aldeaseca de la Frontera, Salamanca). Perspectiva bioarqueológica y posibles implicaciones para el estudio del ritual funerario de Cogotas I". *Zephyrus* LXIX: 95-128.
- Esparza Arroyo, A.; Velasco Vázquez, J. y Delibes de Castro, G. 2019: "No todos los muertos son iguales: tratamiento mortuario heterogéneo en el yacimiento Cogotas I de Canto Blanco (Sahagún/Calzada del Coto, León)". *Norba* 32: 109-131.
- Esparza Arroyo, A.; Velasco Vázquez, J. y Sánchez Polo, A. 2020: "Manipulación de restos humanos en el Bronce Medio meseteño: el fragmento fronto-facial hallado en el yacimiento de La Huelga (Dueñas, Palencia)". *Complutum* 31(1): 49-69. <https://doi.org/10.5209/cmpl.71649>
- Fausto-Sterling, A. 1993: "The five sexes: Why male and female are not enough". *The Sciences* 33: 20-24. <https://doi.org/10.51151/identities.v3i1.118>
- Fausto-Sterling, A. 2000: *Sexing the body*. Basic Books. New York.
- García Barrios, A. S. 2007: "Un enfoque de género en la arqueología de la prehistoria reciente del valle medio del Duero: los cráneos femeninos calcólicos de Los Cercados (Mucientes, Valladolid)". En C. de la Rosa, M. J. Dueñas, M. I. del Val y M. Santo Tomás (eds.): *Nuevos enfoques para la enseñanza de la historia. Mujer y género ante el Espacio Europeo de Educación Superior*. Asociación Cultural Al-Mudayna. Madrid: 41-56.
- Garofalo, E. M. y Garvin, H. M. 2020: "The confusion between biological sex and gender and potential implications of misinterpretations". En A. R. Klales (ed.): *Sex estimation of the human skeleton: History, methods, and emerging techniques*. Academic Press. London: 35-52.
- Geller, P. L. 2008: "Conceiving sex. Fomenting a feminist bioarchaeology". *Journal of Social Archaeology* 8 (1): 113-138. <https://doi.org/10.1177/1469605307086080>.
- Geller, P. L. 2017: "Brave Old World. Ancient DNA testing and sex determination". En S. C. Agarwal y J. K. Wesp (eds.): *Exploring sex and gender in Bioarchaeology*. University of New Mexico Press. Albuquerque: 71-98.
- Gowland, R.; Stewart, N.; Crowder, K.; Hodson, C.; Shaw, H.; Gron, K y Montgomery, J. 2021: "Sex estimation of teeth at different developmental stages using dimorphic enamel peptide analysis". *American Journal of Physical Anthropology* 174: 859-869. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24231>
- Harrison, R. J. 1980: *The beaker folk. Copper Age Archaeology in Western Europe*. Thames and Hudson. London.
- Hernando Gonzalo, A. 2002: *Arqueología de la identidad*. Akal. Torrejón de Ardoz.
- Hernando [Gonzalo], A. 2013: "Change, individuality and reason, or how archaeology has legitimized a patriarchal modernity". En A. González-Ruibal (ed.): *Reclaiming Archaeology. Beyond the tropes of Modernity*. Routledge. London: 155-167.
- Izagirre Arribalzaga, N.; Rúa Vaca, C. de la; Alzualde Zuloaga, A. y Bizcarra, N. de 2001: "Estimación del sexo a nivel molecular en restos esqueléticos humanos". *Munibe Antropología - Arkeologia* 53: 143-150.
- Klales, A. R. (ed.) 2020: *Sex estimation of the human skeleton: History, methods, and emerging techniques*. Academic Press. London.
- Knüsel, C. J. 2002: "More Circe than Cassandra: The Princess of Vix in ritualized social context". *European Journal of Archaeology* 5 (3): 275-308. <https://doi.org/10.1177/146195702761692329>
- Langley, N. R.; Dudzik, B. y Cloutier, A. 2018: "A decision tree for non-metric sex assessment from the skull". *Journal of Forensic Sciences* 63 (1): 31-37. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13534>
- Lassen, C.; Hummel, S. y Herrmann, B. 1996: "PCR based sex identification of ancient human bones by amplification of X- and Y-chromosomal sequences: a comparison". *Ancient Biomolecules* 1: 25-33.
- Legato, M. J. 2020: "What determines biological sex?". En M. J. Legato (ed.): *The plasticity of sex: The molecular biology and clinical features of genomic sex, gender identity and sexual behavior*. Academic Press. London: 1-21.
- Lewis, M. E. 2007: *The bioarchaeology of children. Perspectives from Biological and Forensic Anthropology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Liesau, C.; Blasco, C.; Ríos, P. y Flores, R. 2015: "La mujer en el registro funerario campaniforme y su reconocimiento social". *Trabajos de Prehistoria* 72 (1): 105-125. <https://doi.org/10.3989/tp.2015.12146>
- Linares, J. A. y Vera, J. C. 2015: "La necrópolis del III milenio de El Seminario (Huelva). Organización espacial, contextos y prácticas funerarias". En L. Rocha, P. Bueno-Ramírez y G. Branco (eds.): *Death as archaeology of transition: Thoughts and materials*. British Archaeological Reports International Series 2708, Archaeopress. Oxford: 275-290.
- Lull, V.; Micó, R.; Rihuete Herrada, C. y Risch, R. 2016: "Argaric sociology: sex and death". *Complutum* 27 (1): 31-62. <http://dx.doi.org/10.5209/CMPL.53216>
- Martín Valls, R. y Delibes de Castro, G. 1989: *La cultura del Vaso Campaniforme en las campiñas meridionales del Duero. El enterramiento de Fuente Olmedo (Valladolid)*. Museo Arqueológico. Valladolid.
- Masclans Latorre, A.; Bickle, P. y Hamon, C. 2021: "Sexual inequalities in the Early Neolithic? Exploring relationships between sexes/genders at the cemetery of Vedrovice using use-wear analysis, diet and mobility". *Journal of Archaeological Method and Theory* 28: 232-273. <https://doi.org/10.1007/s10816-020-09453>
- Miguel-Aliaga, I. 2022: "Let's talk about (biological) sex". *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 23 (4): 227-228. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00467-w-y>
- Moilanen, U.; Kirkinen, T.; Saari, N.; Rohrlach, A.; Krause, J.; Onkamo, P. y Salmela, E. 2021: "A woman with a sword? – Weapon grave at Suontaka Vesitornimäki, Finland". *European Journal of Archaeology* 24: 1-19. <https://doi.org/10.1017/eea.2021.30>
- Murail, P.; Brůžek, J.; Houët, F. y Cunha, E. 2005: "DSP: A tool for probabilistic sex diagnosis using worldwide variability in hip-bone measurements". *Bulletins et mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 17 (3-4): 167-176.
- Nájera, T.; Molina, F.; Jiménez-Brobeil S. A.; Sánchez, M.; Al Oumaoui, I.; Aranda, G.... y Laffranchi, Z. 2010: "La población infantil de la Motilla del Azuer: un estudio bioarqueológico". *Complutum* 21 (2): 69-102. <https://revistas.ucm.es/index.php/CMPL/article/view/CMPL1010220069A/28840>
- Olalde, I.; Brace, S.; Allentoft, M. E.; Armit, I.; Kristiansen, K.; Booth, T. ... y Reich, D. 2018: "The Beaker phenomenon and the genomic transformation of northwest Europe". *Nature* 555 (7695): 190-196. <https://doi.org/10.1038/nature25738>
- Olalde, I.; Mallick, S.; Patterson, N.; Rohland, N.; Villalba-Mouco, V.; Duliias, K. ... y Reich, D. 2019: "The genetic history of the Iberian Peninsula over the last 8000 years". *Science* 363: 1230-1234. <https://doi.org/10.1126/science.aav4040>
- Palomo Díez, S.; Esparza Arroyo, A.; Gomes, C.; Rickards, O.; Velasco Vázquez, J.; López-Parra, A. M.... y Arroyo Pardo, E. 2017: "Genetic characterization and determination of the number of individuals by molecular analysis in a prehistoric finding". *Forensic Science International. Genetics Supplement Series* 6: 487-489. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.187>
- Pany-Kucera, D.; Spannagl-Steiner, M.; Waltenberger, L.; Parson, W.; Strobl, C.; Rendl, B.... y Rebay-Salisbury, K. 2021: "Social relations, deprivation and violence at Schleinbach, Lower Austria. Insights

- from an interdisciplinary analysis of the Early Bronze Age human remains". *Archaeologia Austriaca* 104: 13-52. <https://doi.org/10.1007/s12520-020-01199-8>
- Parker, G. J.; Yip, J. M.; Eerikens, J. W.; Salemi, M.; Durbin-Johnson, B.; Kiesow, C.... y Phinney, B. S. 2019: "Sex estimation using sexually dimorphic amelogenin protein fragments in human enamel". *Journal of Archaeological Science* 101: 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2018.08.011>
- Parker, G. J.; Yip, J. M.; Eerikens, J. W.; Salemi, M.; Durbin-Johnson, B.; Kiesow, C.... y Phinney, B. 2021b: "AMELY deletion is not detected in systematically sampled reference populations: A reply to Štampelj". *Journal of Archaeological Science* 130: 105354. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2021.105354>
- Parker, G. J.; McKiernan, H. E.; Legg, K. M. y Goecker, Z. C. 2021a: "Forensic proteomics". *Forensic Science International: Genetics* 54: 102529. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102529>
- Plaseska-Karanfilska, D.; Noveski, P. y Plaseski, T. 2011: "Detection of the most common genetic causes of male infertility by Quantitative Fluorescent (QF)-PCR Analysis". En D. Plaseska-Karanfilska (ed.): *Human genetic diseases*. IntechOpen: 203-222. <https://doi.org/10.5772/33229>
- Rebay-Salisbury, K.; Janker, L.; Pany-Kucera, D.; Schuster, D.; Spannagl-Steiner, M.; Waltenberger, L.... y Kanz, F. 2020: "Child murder in the Early Bronze Age: proteomic sex identification of a cold case from Schleimbach, Austria". *Archaeological and Anthropological Sciences* 12: 265. <https://doi.org/10.1007/s12520-020-01199-8>
- Redfern, R.; Marshall, M.; Eaton, K. y Poinar, H. 2017: "'Written in bone': New discoveries about the lives and burials of four roman londoners". *Britannia* 48, 253-277. <https://doi.org/10.1017/S0068113X17000216>
- Robb, J. 2019: "Beyond Individual Lives: Using Comparative Osteobiography to Trace Social Patterns in Classical Italy". *Bioarchaeology International* 3 (1): 58-77. <https://doi.org/10.5744/bi.2019.1008>
- Schmidt R. A. 2005: "The contribution of gender to personal identity in the Southern Scandinavian Mesolithic". En E. C. Casella y C. Fowler (eds.): *The archaeology of plural and changing identities*. Kluwer-Plenum. New York: 79-108.
- Schutzkowski, H. 1993: "Sex determination of infant and juvenile skeletons: I. Morphognostic features". *American Journal of Physical Anthropology* 205: 199-205. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330900206>
- Skoglund, P.; Storå, J.; Götherström, A. y Jakobsson, M. 2013: "Accurate sex identification of ancient human remains using DNA shotgun sequencing". *Journal of Archaeological Science* 40 (12): 4477-4482. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2013.07.004>
- Sofaer, J. 2006a: *The body as material culture. A theoretical archaeology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Sofaer, J. 2006b: "Gender, bioarcheology and human ontogeny". En R. Gowland y C. Knüsel (eds.): *The social archaeology of funerary remains*. Oxbow. Oxford: 155-167.
- Sofaer, J. 2013: "Bioarchaeological approaches to the gendered body". En D. Bolger (ed.): *A companion to gender prehistory*. John Wiley & Sons. Chichester: 226-243.
- Solari, A. J. 2011: *Genética humana: fundamentos y aplicaciones en Medicina*. Editorial Panamericana. Buenos Aires.
- Soriano, I.; Herrero-Corral, A. M.; Garrido-Pena, R. y Majó, T. 2021: "Sex/gender system and social hierarchization in Bell Beaker burials from Iberia". *Journal of Anthropological Archaeology* 64: 101335. <https://doi.org/10.1016/j.jaa.2021.101335>
- Štampelj, I. 2021: "Sex estimation based on the analysis of enamel peptides: False assignments due to AMELY deletion". *Journal of Archaeological Science* 130: 105345. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2021.105345>
- Stewart, N. A.; Gerlach, R. F.; Gowland, R. L.; Gron, K. J. y Montgomery, J. 2017: "Sex determination using peptides from tooth enamel". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (52): 13649-13654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714926115>
- Stewart, N. A.; Molina, G. F.; Issa, J. P. M.; Yates, N. A.; Sosovicka, M.; Vieira, A. R.... y Gerlach, R. F. 2016: "The identification of peptides by nanoLC-MS/MS from human surface tooth enamel following a simple acid etch extraction". *RSC advances* 6 (66): 61673-61679. <https://doi.org/10.1039/C6RA05120K>
- Teschler-Nicola, M. T.; Gerold, F.; Bujatti-Narbeshuber, M.; Prohaska, T.; Latkoczy, Ch.; Stinger, G. y Watkins, M. 1999: "Evidence of genocide 7000 BP—Neolithic paradigm and geoclimatic reality". *Collegium Antropologicum* 23 (2): 437-450.
- Turek, J. 2017: "Sex, transsexuality and archaeological perception of gender identities". *Archaeologies: Journal of the World Archaeological Congress* 12(3): 340-358. <https://doi.org/10.1007/s11759-017-9303-0>
- Vlak, D.; Roksandic, M. y Schillaci, M. A. 2008: "Greater sciatic notch as a sex indicator in juveniles". *American Journal of Physical Anthropology* 137 (3): 309-315. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20875>
- Welker, F.; Ramos-Madrigal, J.; Gutenbrunner, P.; Mackie, M.; Tiwary, S.; Rakownikow-Jersie-Christensen, R.... y Capellini, E. 2020: "The dental proteome of *Homo antecessor*". *Nature* 580: 235-238. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2153-8>
- Wellesley, D.; Dolk, H.; Boyd, P.; Greenlees, R.; Haeusler, M.; Nelen, V.... y Tucker, D. 2012: "Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe". *European Journal of Human Genetics* 20(5): 521-526. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.246>
- Wesp, J. K. 2017: "Embodying sex/gender systems in bioarchaeological research". En S. C. Agarwal y J. K. Wesp (eds.): *Exploring sex and gender in Bioarchaeology*. University of New Mexico Press. Albuquerque: 99-126.
- White, T. D. y Folkens, P. A. 2005: *The human bone manual*. Elsevier Academic Press. Amsterdam-Boston.
- Witchel, S. F. y Azziz, R. 2010: "Nonclassic congenital adrenal hyperplasia". *International Journal of Pediatric Endocrinology* 625105. <https://doi.org/10.1155/2010/6251052010;2010:625105>