

UNIVERSIDAD AUTONOMA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



EL CITOESQUELETO

TESINA

Que Para obtener el titulo de:

QUIMICO BIOLOGO.

J50651

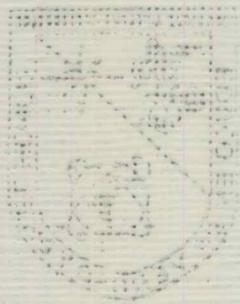
presenta:

LOS ANGELES ESCAMILLA

NAVARRO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA

FACULTAD DE CIENCIAS



EL CIORQUELEO

TESINA

de las ciencias de la vida

de Biología



J50651

NAVARRA

UNIVERSIDAD AUTONOMA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



EL CITOESQUELETO

TESINA

Que Para obtener el titulo de:

QUIMICO BIOLOGO.

presenta:

MA. DE LOS ANGELES ESCAMILLA
NAVARRO

No. Adq. 150651

No. Título _____

Clas. 611.018

E74c

No. Título _____

No. Adq. _____

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUININDÍ

FACULTAD DE QUININDÍ
R. I. S. T. U. S. A.
B. U. A. Q.

LIBRO DE REGISTRO

CON AMOR Y RESPETO

A QUINES LES DEBO TODO

MIS PADRES

ALICIA Y JOSE INES.

CON CARÍÑO Y AGRADECIMIENTO

POR SU APOYO

A MIS HERMANOS

JOSE LUIS
DIANA ALICIA
MA: GRICELDA
MIGDALIA EDITH

A TODOS MIS FAMILIARES Y AMIGOS.

CON GRATITUD

C O N G R A T I T U D

PORQUE INFLUYERON DE UNA
FORMA POSITIVA EN MI FORMA
CION COMO PERSONA Y PROFE-
SIONISTA

A LA UNIVERSIDAD

A TODOS MIS MAESTROS

A MIS COMPAÑEROS Y
AMIGOS UNIVERSITARIOS

Y AL DR. VICTOR MANUEL
LOYOLA VARGAS.

I N D I C E .

INTRODUCCION.	3
EL CITOESQUELETO.	5
MICROFILAMENTOS.	7
MICROTUBULOS.	12
FILAMENTOS INTERMEDIOS.	18
VISION GLOBAL DEL CITOESQUELETO...	22
BIBLIOGRAFIA.	28

I N T R O D U C C I O N .

Como es conocido, las células son entidades biológicas organizadas, siendo capaces de cambiar de forma, de migrar de un lugar a otro, entre otras muchas propiedades.

Inicialmente se creía que el citoplasma celular era una masa coloidal amorfa que fungía como el recipiente de los organelos, pero a medida que ha avanzado la ciencia y se han presentado innovaciones en la forma de fijar y teñir a las células, al igual que el gran desarrollo alcanzado por la microscopía electrónica, se ha observado que en el citoplasma celular existen proteínas altamente organizadas que sirven como un "Músculo Esquelético" denominado CITOESQUELETO.

El citoesqueleto está formado por tres proteínas principales, que son; FILAMENTOS DE ACTINA (Microfilamentos), MICROTUBULOS y FILAMENTOS INTERMEDIOS, interviniendo además otras proteínas accesorias.

El CITOESQUELETO está realcionado directamente con las propiedades de cambiar de forma, migración y otras, por lo que su estudio es ahora fundamental para poder entender muchos de los aspectos de regulación metabólica en la célula.

La presente tesina es una revisión sobre el conocimiento actual de la MORFOLOGIA DEL CITOESQUELETO.

EL CITOESQUELETO.

El antiguo concepto del citoplasma como una masa coloidal amorfa como recipiente de organelos incrustados, ha sido abandonada en favor de la opinión de una organización de fibras interrelacionadas entre si para formar una red denominada CITOESQUELETO (2).

Las células tienen distintas formas y un alto grado de organización interna, son capaces de cambiar su forma, de reponer sus organelos internos y en muchos casos de emigrar de un lugar a otro. Estas propiedades respecto a la forma, organización interna y movimiento, dependen del citoesqueleto (1).

Los dos tipos más importantes de filamentos del citoesqueleto son los FILAMENTOS DE ACTINA (microfilamentos) y los MICROTUBULOS. Ambos están compuestos de subunidades de proteínas globulares y que se pueden agrupar y desagrupar rápidamente en la célula. Existe además una clase intermedia de filamentos de proteínas con un diámetro intermedio entre el de los filamentos de actina y el de los microtúbulos, denomi

nados por ello FILAMENTOS INTERMEDIOS, están constituidos de subunidades de proteínas fibrosas y son mucho más estables que los filamentos de actina y que los microtúbulos (1).

Además de los tres tipos de proteínas principales que forman al citoesqueleto, éste también contiene varias proteínas accesorias que, o enlazan los filamentos uno a otro, o lo hacen a los componentes de otra célula, o influyen en la proporción y extensión de la polimerización del filamento (1)

MICROFILAMENTOS.

Las microfibrillas de proteína semejantes a los microfilamentos fueron reconocidas por primera ocasión en células vegetales. Inicialmente y mediante el uso de la microscopía electrónica se reconocieron a la microfibrillas, como una clase heterogénea de fibras gruesas (diámetro mayor a 10 nm), y delgadas (diámetro de 4 a 6 nm), diseminadas en varios niveles del citoplasma y asociadas entre si. La separación de estas microfibras fue difícil, hasta que Istikawa (1969), adaptó el procedimiento de Huxley de marcaje de la miosina, en células extraídas en glicerol (2).

Los microfilamentos están compuestos por actina, siendo ésta la más abundante de todas las proteínas del citoesqueleto, se encuentra comúnmente asociada a la miosina en las estructuras celulares que producen el movimiento. Existen aproximadamente seis tipos de actina, sintetizadas por células de vertebrados, todas las especies eucarióticas, excepto las más primitivas (p. ej. levaduras) tienen múltiples genes para actina y están altamente conservados, provocando diferencias muy leves entre dichas actinas, siendo funcionalmente intercambiables (1).

La actina que ha sido más estudiada es la extraída del músculo esquelético generalizándose los resultados a cualquier otro tipo por su similitud (1).

En todas las especies eucarióticas al tratarse con soluciones salinas se rompen los filamentos de actina en sus subunidades globulares, las cuales están compuestas de un polipéptido individual de 41,800 daltones de peso molecular, denominado en ocasiones ACTINA GLOBULAR o ACTINA G. Cada molécula de esta actina se asocia con calcio (Ca^{2+}), el cual estabiliza su conformación globular, así como la formación de un enlace no covalente con el ATP. El fosfato terminal del enlace ATP es hidrolizado cuando la actina G se polimeriza para formar filamentos de actina también llamados ACTINA -FILAMENTOS o ACTINA F. La polimerización puede ser inducida simplemente al rebasarse la concentración de sales a niveles cercanos al encontrado en las células; la solución de actina, la cual es ligeramente más viscosa que el agua; experimenta un rápido aumento en la viscosidad al asociarse sus moléculas para formar los filamentos (1).

Aunque el ATP es hidrolizado durante la polimerización, el proceso no requiere energía y la actina se polimeriza aún en presencia de un análogo no hidrolizable del ATP (1).

Los filamentos de la actina al observarse en el microscopio de electrones se componen de dos hilos de moléculas glo

bulares de cerca de 4 nm de diámetro, torcidos en una espiral con 13.5 moléculas por vuelta (1).

Los filamentos de actina son estructuras polares, sus dos terminaciones son diferentes, dicha polaridad es esencial para la movilidad celular, y es detectada por la forma en que interactúa con la miosina, la cual está presente siempre donde los filamentos de actina forman manojos contráctiles en la célula, siendo por ello la miosina una proteína accesoria (1).

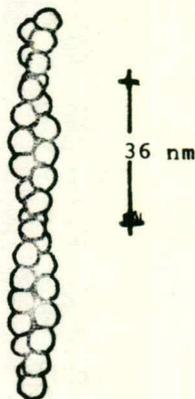
Los microfilamentos están asociados con los movimientos celulares, en la división celular, corrientes citoplasmáticas migración de la célula a otro lugar y separación de invaginaciones de la membrana (1).

Con el fin de ejercer una fuerza mecánica, los filamentos de actina se fijan a una terminación de las membranas de la célula; si bien aún no se conoce como sucede esa unión. Se ha observado en algunos casos una proteína de enlace específica conocida como VINCULINA (1).

La Citocolasina B y la Faloidina, son fármacos que previenen la polimerización y despolimerización de los filamentos de actina respectivamente (1).

Los haces de filamentos de actina asociados con agregados cortos bipolares de miosina no muscular, se encuentran en regiones de la célula donde son necesarias contracciones similares a las musculares. Las redes menos organizadas de filamentos de actina con propiedades de gel se encuentran por to-

do el citoplasma, en capas corticales abajo de la membrana del plasma. Estas redes pueden estar formadas por proteínas flexibles de enlace cruzado con actina como la filamina (1).



Dibujo esquemático del filamento de actina, que muestra la distribución helicoidal de las moléculas de actina. Representadas aquí en forma de esferas, aunque los estudios de difracción de Rayos X indican que las moléculas tienen forma de pera con 6.5 nm de largo y 4 nm de un lado a otro en la parte más ancha, siendo estas medidas aproximadas (1).

MICROTUBULOS.

A pesar de que Santiago y Cajal en el siglo XIX detectó una red de fibras en las neuronas mediante tinción de plata no se creyó en ello hasta el descubrimiento de los microfilamentos y de los microtúbulos por medio de la microscopía electrónica. El mejoramiento en la fijación celular permitido por el glutaraldehído (Sabatini, 1963), permitió el reconocimiento de los microtúbulos en todas las células eucariotas. Antes de la "Era del Glutaraldehído", se habían reconocido "Filamentos" en el huso mitótico de las amibas (Roth y Daniels, 1962) (2).

La primera indicación de microtúbulos en las células de vegetales superiores fué publicada por Ladbetier y Porter (-1963) quienes encontraron túbulos de 23 a 27 nm de diámetro. Más tarde Ladnetter y Porter (1964) y Gall (1966), pudieron demostrar que la pared de los microtúbulos, 7nm, está compuesta de subunidades, que en sección transversal son unas trece y tienen unos espacios de centro a centro de 4.5 nm (3). Descubrimiento que ha sido comprobado en años recientes en diversas especies, usando ácido tánico para teñir las células (2).

Los microtúbulos son estructuras que se hallan presentes en el citoplasma de las células eucariotas de forma universal, presentando uniformidad propia en los diferentes tipos de células (4).

Los microtúbulos son cilindros rectos, huecos, de 25 nm de diámetro aproximadamente y de longitudes variables (encontrándose hasta de cien veces su diámetro) (1,5).

La proteína que forma estos microtúbulos es la TUBULINA. Se conocen dos tipos de tubulina: TUBULINA ALFA y TUBULINA BETA. Las moléculas de los dos tipos son aproximadamente del mismo tamaño, cada una tiene un peso molecular de 50,000 daltones. Dos moléculas, una de cada tipo, se unen de forma no covalente para formar un dímero que es la unidad estructural del microtúbulo (5).

Cuando las moléculas de tubulina se ensamblan forman protofilamentos de polipéptidos de tubulina alineados en hileras, la tubulina de un dímero enlazado a la tubulina del siguiente. Normalmente trece de dichos protofilamentos están ordenados lado con lado alrededor de una médula central. La difracción óptica y los rayos X demuestran que los polipéptidos de tubulina en los protofilamentos adyacentes no están alineados en orden, pero están escalonados; lo que produce un reticulado regular de moléculas de tubulina en la pared de cada microtúbulo (1).

El ensamble de las moléculas de tubulina tiene lugar espontáneamente in vitro, acompañada de la hidrólisis de un

núcleotido, en este caso el GTP. El ensamblamiento de los microtúbulos en las células se organiza mediante varias estructuras especializadas que proporcionan una base a partir de los cuales los microtúbulos pueden crecer. Los microtúbulos de los cilios y los flagelos de las células eucariotas se organizan en el haz de los axonemas mediante una estructura especializada que se conoce como cuerpo basal. Al igual que los microfilamentos, la habilidad de los microtúbulos ciliares para producir movimiento, depende de su polaridad. Los cilios y los flagelos terminan dentro de la célula en el cuerpo basal, el cual se compone de microtúbulos paralelos que forman un cilindro corto con el mismo diámetro exterior y simetría de nueve pares como la del axonema, extendiéndose cada par hacia el cuerpo basal donde se acopla por medio de un tercer microtúbulo parcial (1).

A parte de los microtúbulos permanentes (cilios y flagelos), existen microtúbulos que se forman en los momentos específicos requeridos por las células, los más comunes de éstos son los ejes mitóticos y el anillo contráctil, que se forman durante la división celular. Estos y otras estructuras móviles en las células se forman de los microtúbulos y de los filamentos de actina, los cuales se ensamblan a partir de los fondos de la tubulina soluble y de la actina en el citoplasma y se desensamblan cuando ya no son requeridos. Muchos de los microtúbulos que se forman son lábiles y hay algunos cuya función depende de esta labilidad (1).

La labilidad puede ser vista mediante la sensibilidad extrema de los ejes mitóticos a varos fármacos que se ligan a la tubulina y previenen la polimerización. Una molécula de colchicina (un alcaloide que se extrae del azafrán), si se pone en contacto con la tubulina se une a ella impidiendo la polimerización, que impide a su vez la aparición del eje mitótico, bloqueando por consiguiente la mitosis (1).

Existe otro mecanismo inhibidor de la mitosis, el taxol aumenta la polimerización de la tubulina in vitro, y al ser agregado a las células produce gran cantidad de tubulina que se ensambla en microtúbulos estabilizados e impidiendo su desacoplamiento, incapacitando a la célula al crecimiento; detendiendose en la mitosis. Otro agente que actúa de igual forma es el agua pesada (D_2O) (1).

Los microtúbulos solos, como centros flexibles en el citoplasma, son de un valor limitado para la célula. Deben de estar enlazados a otras partes de la célula antes de poder actuar como un armazón estructural o participar en el movimiento celular (1).

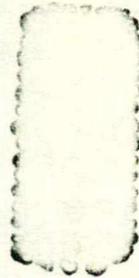
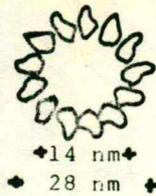
Las impurezas que intensifican la polimerización de los microtúbulos son proteínas accesorias que caen dentro de dos clases principales; las de la clase MAP (proteínas asociadas a microtúbulos), las cuales poseen un peso molecular en la cadena polipeptídica de 200,000 a 300,000 daltones, y las proteínas Tau que tienen un peso molecular de 60,000 a 70,000 daltones. Ambas proteínas accesorias purificadas inducen a la polimerización de tubulina purificada, enlazándose a los

microtúbulos formados (1).

Las proteínas Tau parecen enlazarse a varias moléculas de tubulina en forma simultánea, en cambio las proteínas MAP se unen en dos dominios; mientras una se une al microtúbulo, la otra se extiende hacia afuera y puede ser incluida en el enlace, cruzando del microtúbulo a otros componentes de la célula (1).

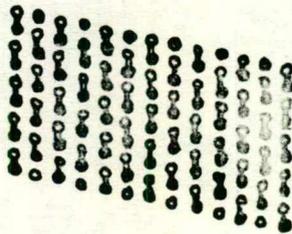
En la mayoría de las células, el centro de organización de los microtúbulos es denominado centro de la célula o CENTRIOSOMA. La estructura de éste centrosoma, es un cilindro de $0.1\mu\text{m}$ de diámetro y de $0.3\mu\text{m}$ de largo, apenas detectable a la luz del microscopio, aunque no todos los centrosomas y los cuerpos basales tienen estructuras muy similares y en muchos casos son interconvertibles (1).

Los centrosomas tienen como misión organizar cilios, flagélos y el eje mitótico. (1).



--- alfa dímerno de tubulina.

8 nm



--- alfa dímerno de tubulina.
 --- beta

El diagrama muestra el ordenamiento de los polipéptidos de tubulina que dan origen al microtúbulo, el primero muestra las trece unidades en un corte transversal, el segundo y el tercero indican el alineamiento de las fracciones alfa y beta de la tubulina (1).

FILAMENTOS INTERMEDIOS.

Los filamentos intermedios son fibras de proteínas durables y fuertes que parecen rectas o que están colocadas ligeramente en curva en las células eucarióticas. Su diámetro es característicamente de 8 a 10 nm y por lo tanto de valor intermedio entre el diámetro de los filamentos de actina y el de los microtúbulos. Son particularmente prominentes en aquellas partes de una célula que está sometida a una tensión mecánica (1).

Los filamentos intermedios son los componentes más estables del citoesqueleto y los constituyentes menos solubles de la célula, de hecho el término "Citoesqueleto" originalmente se acuñó para describir a estas estructuras altamente insolubles (1).

En contraste con la actina y la tubulina, que son estructuras globulares, los filamentos intermedios son moléculas irregulares en forma de hilos, estos filamentos están compuestos de polipeptidos de un amplio rango de tamaño (de alrededor de 40,000 daltones a más de 200,000 daltones)

que varían entre los diferentes tipos de célula y en los mismos tipos de filamentos intermedios, difieren en la secuencia de aminoácidos y sin embargo todos contienen zonas homólogas que se cree están involucradas en la formación del filamento (1).

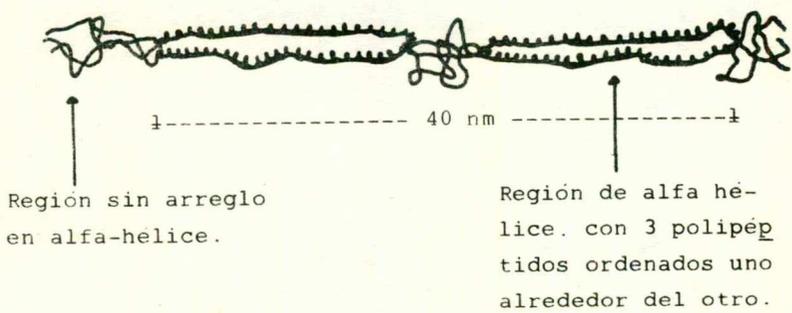
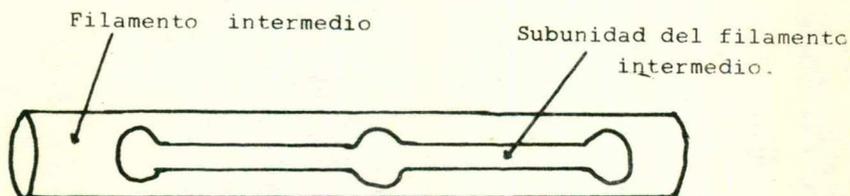
No se sabe actualmente como los polipéptidos individuales se ordenan en un filamento intermedio, pero se ha sugerido que pueden agruparse en conjuntos de tres, ya que la subunidad del filamento es un trímero. Cada polipéptido tiene dos distintas regiones de alfa-hélice, y se piensa que estas regiones en los tres polipéptidos de un trímero son envueltos uno alrededor del otro en un orden en espiral. Otras regiones de las cadenas polipeptídicas menos ricas en alfa-hélice pueden servir para estabilizar al filamento y para interactuar con otros constituyentes citoplasmáticos. Estas regiones, las cuales no están directamente involucradas en la formación de los filamentos, demuestran la considerable variación de polipéptido a polipéptido dentro de la familia de proteínas de los filamentos intermedios (1).

El ensamblaje de los filamentos intermedios probablemente es irreversible, pues no existe evidencia de una fuente de filamentos intermedios no polimerizados, ni un equilibrio entre formas solubles y polimerizadas (1).

Existen varias clases diferentes de filamentos intermedios, cada uno compuesto de un conjunto distinto de subuni-

dades peptídicas, pero en general cualquier tipo de célula contiene sólo una clase de filamentos intermedios. La existencia de esta diferencia en los polipéptidos está implicada en las diferentes interacciones y funciones en los diversos tipos de células (1).

Hasta el momento ha sido muy difícil explorar las funciones de los filamentos intermedios, ya que se carece de reactivos que puedan interrumpir estos filamentos en las células vivas, sin embargo, es posible inyectar células cultivadas con anticuerpos monoclonales que reaccionan con los filamentos intermedios (1). Dichos anticuerpos inyectados en un fibroblasto causan el colapso de los filamentos que contienen vimetina dentro de una capa angosta cercana al núcleo. En forma sorprendente los anticuerpos no tienen ningún efecto sobre el crecimiento, división, movimiento o forma de las células. Por lo tanto parece que la función de estos filamentos intermedios es tan sutil como para ser discernida por el examen de células cultivadas (1).



Modelo de la estructura del filamento intermedio, basándose en la hipótesis de que el filamento está compuesto de tres subunidades de polipéptidos fibrosos. (Adaptado de P. Steinert J.) (1).

VISION GLOBAL DEL CITOESQUELETO.

Las partes mencionadas del citoesquelto no se encuentran en una forma aislada, sino que se encuentran unidas y sus funciones son intercoordinadas con el fin de ajustar los cambios en la forma celular y producir varios tipos de movimiento en dichas células (1).

Desafortunadamente poco se sabe acerca de las interacciones entre los tres principales sistemas de filamentos del citoesqueleto y aún menos acerca de los mecanismos moleculares que condicionan el orden y los diversos cambios que ocurren en ellos (1).

El microscopio electrónico convencional de sección fina no es una buena forma para examinar el orden tridimensional de los filamentos de proteína en el citoplasma. La sección obtenida es muy delgada para dar cualquier indicación de la geometría total de los filamentos (1).

Las imágenes " más limpias " se obtienen cuando las células se extraen con un detergente no iónico, lo que permite que los fosfolípidos y las proteínas solubles de la célula puedan ser removidas al lavarse, después del deter-

gente las células son rápidamente congeladas y regravadas revelando una vista llamativa del citoesqueleto el cual semeja una interminable red de filamentos de actina y filamentos intermedios (1).

Los filamentos individuales de actina y los filamentos intermedios permanecen en su posición original y bajo condiciones especiales. los microtúbulos pueden también ser preservados. Los diferentes tipos de filamentos de proteínas se pueden identificar por su diámetro, y en algunos casos por el orden de sus subunidades de proteínas (1).

Una vista similar se puede obtener mediante células teñidas con metales pesados, después de que han sido extraídas con un detergente. También se pueden visualizar en el microscopio de electrones de alto voltaje las secciones gruesas del citoplasma. En estas imágenes los tres tipos de proteínas parecen ser muy independientes y si se llegan a unir, lo hacen sólo mediante puentes cruzados ocasionalmente (1).

Las células que no han sido tratadas con detergente proyectan una imagen muy diferente del citoesqueleto. Estas células pueden examinarse en un microscopio de electrones de alto voltaje, o mediante un congelamiento y una regravación rápida. Los principales filamentos del citoesqueleto parecen estar ampliamente interconectados mediante una red tridimensional de finos hilo, compuesta presumiblemente de

las proteínas que se remueven de las células tratadas con detergente. Estas redes han sido llamadas REDES MICROTEBECULARES. Actualmente es incierto el si ésta fina rec es parte del citoesqueleto en las células o si se produce mediante el agregado de macromoléculas durante la fijación y la deshidatación celular (1).

Por tener la célula una alta concentración de actina algunas proteínas solubles tienden a ligarse con la actina y pasar por lo tanto a estar asociadas con el citoesqueleto en forma momentánea, o permanente, por ejemplo; las enzimas solubles que están involucradas en la glucólisis, parecen estar unidas a los filamentos de actina, la forma en que se unen a la actina va desde uniones ligeras, hasta uniones muy fuertes (como puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals) (1).

Se ha observado que los microtúbulos influyen claramente en la distribución de los filamentos de actina y los filamentos intermedios indicando con ello, que pueden ser los organizadores completos del citoesqueleto (1).

Ha sido notorio que se pueden provocar cambios en el citoesqueleto mediante el gene src del virus Sarcoma de Reus el cual es una quinasas proteína que cataliza la fosforilación de los residuos de tirosina, atacando de ésta forma a la vinculina del citoesqueleto (1).

Parece ser que los microtúbulos citoplasmáticos determinan la polaridad de la célula y coordinan las diversas partes del citoesqueleto responsables de los complejos movimientos celulares.

res por lo que se podría decir que son "El comandante en jefe" de la célula. Por lo tanto, la forma de una célula es radicalmente alterada cuando entra en contacto con una superficie sólida alterando dos propiedades físicas de dicha célula: la viscosidad o adherencia de la superficie y su perfil tridimensional (1).

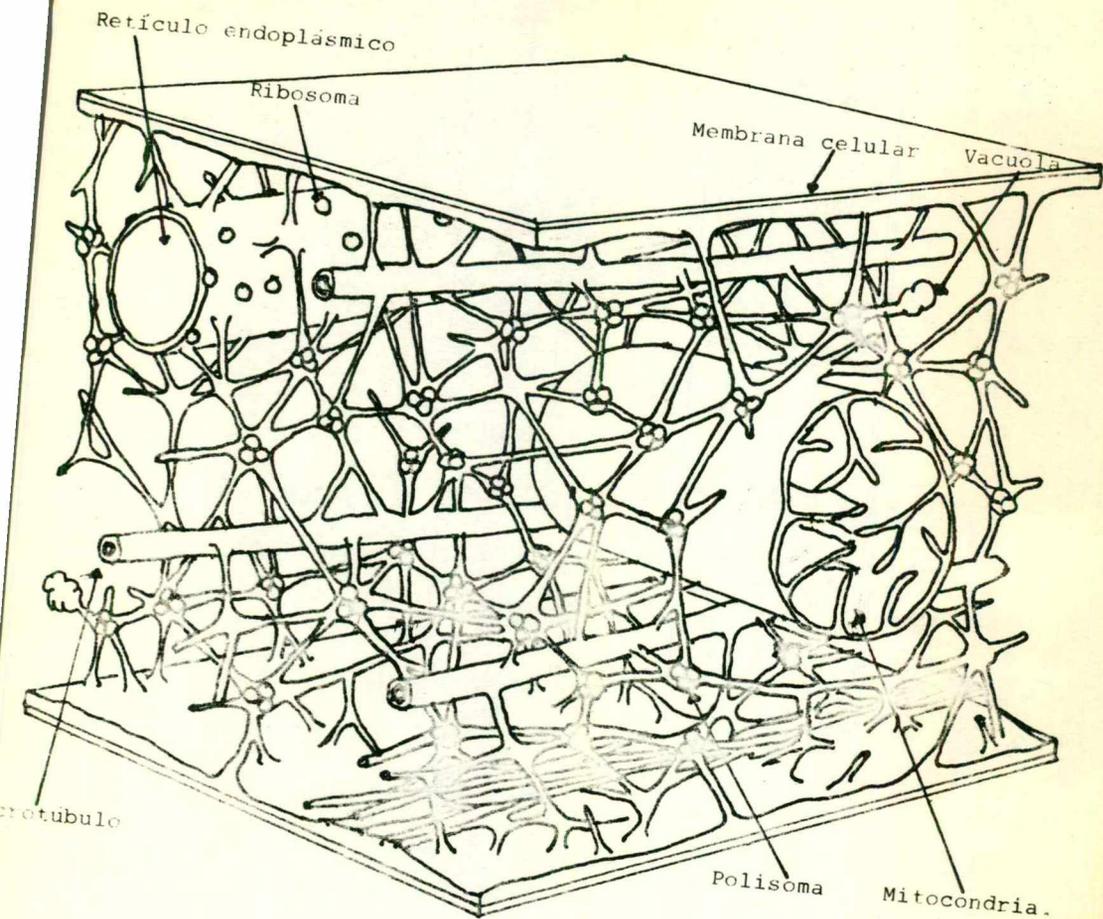
La organización y función del citoesqueleto no depende del núcleo. Una célula que lo pierde, todavía es capaz de estar unida a un sustrato, cambiar de forma, emigrar, ingerir partículas, etc. (1).

El citoesqueleto de una célula puede influir en el citoesqueleto de las células hijas (el como se propaga la información organizacional de célula en célula, es todavía un misterio), además pueden influir también al citoesqueleto de células vecinas en el mismo tejido (1).

Un mecanismo por el cual ésta influencia podría operar es a través de la formación de uniones intercelulares que conectan a las células y que actúan como puentes de sugestión para los filamentos de proteína en el citoplasma de la célula adyacente, otro mecanismo puede ser las interacciones entre el citoesqueleto de la célula y la matriz extracelular que la célula secreta (1).

A pesar de los grandes avances en el entendimiento del citoesqueleto en los años recientes, el mecanismo molecular movimientos tan importantes tales como: la fagocitosis, la

mitosis. los movimientos intermitentes y la locomoción celular. todavía se desconoce, una de las principales razones de la ignorancia es que la maquinaria bioquímica responsable de estos movimientos no se localiza en una estructura individual, sino que está ampliamente distribuida por toda la célula. Es más, a causa de que la maquinaria es lábil y fácilmente rompible cuando la célula es rota, es difícil aislarla en una forma funcional (1).



Modelo de la célula originado de la observación de la misma en el microscopio de electrones de alto voltaje.

B I B L I O G R A F I A .

- (1)..... Brue Albert, Dennis Bray, Martin Raff, Keith Robert, James D. Watson; MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL: Garland Publishing INC; New York, 1983; pag. 549 -- 605.
- (2)..... B.R. Brinchey; METHODS IN CELL BIOLOGY, VOL. 24; Academic Press Inc; New York 1984; pag. 01-08.
- (3)..... Du Praw Ernest J.; BIOLOGIA CELULAR Y - MOLECULAR; Edit. Omega; Barcelona, España, 1971; pag 218 - 223.
- (4)..... EDP De Roberts, FA Saiz, EMF De Roberts; CELL BIOLOGY; 6ª Edic.; W.B. Saunders - Comunity; Philadelphia, 1975; pag., 510 - 513.
- (5)..... Kimball W. John; BIOLOGIA; 4ª Edic. Fondo Educativo Interamericano; México, 1982; pag. 74 - 75.