

动物细胞的衰老

赵增翰

(中国科学院动物研究所)

衰老是从性成熟后才开始或加速的一种带普遍性、渐进性且不可逆转的生命过程。在此过程中机体越来越容易丧失功能,感染疾病,终至死亡。衰老表现在动物整体、器官与组织、细胞与分子等各个水平,本文仅就细胞水平的衰老现象及其机理做一简介。

所谓细胞水平的衰老包括多细胞生物体内细胞的衰老和离体细胞的衰老过程。兹分述之。

一、体内细胞的衰老

从老年生物学的角度,可将细胞大致分为五类即:

(一) **生长性分裂间期细胞 (Vegetative inter-mitotics)** 为连续或周期性的分裂细胞,属于未分化的原始细胞或干细胞,如表皮基层细胞、骨髓血球母细胞、精原细胞、小肠隐窝上皮细胞等等。这种细胞不易看出衰老现象。

(二) **分化中分裂间期细胞 (Differentiating intermitotics)** 由上类细胞进一步发育而成。有明显分化但仍按期进行若干次有丝分裂,如红髓母细胞、精母细胞等,这类细胞也尚未查出明显的衰老现象。

(三) **可逆性分裂后细胞 (Reverting postmitotics)** 为成熟高度分化的细胞,但仍具分裂能力。如成纤维细胞、软骨骨细胞、内皮细胞、淋巴细胞、肾细胞等,有些肝细胞当再生时迅速分裂,有些腺细胞也属此类,对这类细胞衰老的研究也还很少。

(四) **短寿命的固定分裂后细胞 (Short-lived fixed postmitotics)** 是由分化中分裂间期细胞形成的成熟细胞,也是细胞按既定程

序更新的最后产物,属高度分化但短期存活即行退化的细胞。例如颗粒白血细胞、红血细胞、角化的鳞状上皮、胃肠中产生粘液、酸与酶的细胞等都属此类。在机体不同年龄时这类细胞本身的变化很少有人注意,而且也没人证明年轻与年老个体红细胞寿命(约120天)有何差异。

(五) **长寿命的固定分裂后细胞 (Long-lived fixed postmitotics)** 为出生时已基本具备不再分裂的细胞。如体内众多的神经细胞、肌肉细胞。它们都已高度分化,并几乎与个体寿命等长。昆虫在经过变态后的成虫其大部细胞也属此类。由于这类细胞在受到损害或死亡后不能更新,因此一旦造成功能上的损失也是无法补偿的。对研究衰老来说,这种在机体中存在终生的细胞是最合适的模型。现仅以神经细胞为主概述它们在体内的衰老变化。

1. 细胞数量的减少 早在五十年代就有人指出神经细胞大量丧失可能是老年脑神经功能下降的原因,但也有人认为过去的样品制备技术有缺陷,造成细胞丧失的假相^[30]。七十年代以来有人证明在脑的某些区域神经细胞确实大量丧失^[12,64],如上颞回皮层细胞丧失达30%,但在其它区域则否。有人用备有电子计算机的颗粒分析仪研究了11个脑区,证明神经细胞丧失显著。个体从20岁到90岁^[74,29],神经细胞数从3,300/平方毫米减少到1500/平方毫米($P < 0.001$)。人小脑浦肯野细胞^[28]、腰骶部脊髓运动神经元^[75]、兰斑核^[77,73]、内脏神经核^[44]及豆核壳^[13]的神经细胞,在衰老时有中度乃至严重的减少。至于其它脑组织,如腹侧耳蜗核^[38,39]、滑车核与外展核^[76]、乳头体^[80]以及下橄榄核^[50]到90多岁也还看不到神经细胞的数量变化。由

此可见细胞减少这一问题还相当复杂,不能一概而论。

2. 脂褐素的聚集 细胞内脂褐素随年龄增长而沉积增多,可占核外胞质的一半,因此已被公认为最可靠的衰老指标。脂褐素呈黄褐色颗粒,有淡黄至橙红色自发荧光,大小形态随动物年龄及所在器官部位而异。对酸碱和有机溶剂有耐受性,故形态比较稳定。在电镜下脂褐素由单层膜包着,有致密颗粒及小泡状电子透明区,有时可见片层结构。其随年龄增加的速度因不同核团或不同动物而异。例如豚鼠脑细胞的脂褐素在2岁时首先见于中脑核,3岁时在脑神经的运动核中出现,而耳蜗核似乎终生没有脂褐素。在大小鼠脑中脂褐素在海马回神经细胞中的含量比小脑浦肯野细胞含量高^[40],在猕猴则以下橄榄核含量最多^[41]。为什么有多有少?目前还不甚了解。关于脂褐素的来源有各种推测,如主张来自线粒体、高尔基体及内质网等。较多的看法是与溶酶体有关。首先是退化的胞质结构的碎片由自噬小泡包围,然后小泡与溶酶体融合构成次级溶酶体,经过酶的消化,其中不能溶解的物质进行了一系列变化就形成了脂褐素^[67]。但也有一些工作证明线粒体退化可以形成脂褐素,不须有溶酶体参加^[48],我们实验室也曾观察到类似情况^[4]。形成脂褐素的生化过程目前比较成熟的解释来自自由基理论,即在自噬小泡内的胞器碎片通过脂类过氧化,蛋白质水解乃至大分子交联等反应构成脂褐素^[68]。事实上,当缺少天然抗氧化剂——维生素E时脂褐素堆积加速^[55,37],在小鼠饲料中补充维生素E可见脂褐素堆积显著减少^[7,3]。

脂褐素沉积的功能意义颇多争论。索哈尔和多纳托(Sohal and Donato),用家蝇研究发现低活动量的家蝇寿命长,脂褐素含量少;高活动量者寿命短而脂褐素含量多^[69]。这不等于说脂褐素对寿命有害,只能推想活动量大者代谢活跃,自由基产生机会多,因而较多地损伤生物膜,脂褐素作为膜脂过氧化产物自然也会增多。对人的中枢神经系尸检后发现脂褐素含量与胞质RNA水平呈负相关^[45,26]。泽曼(Zeman)

也指出脂褐素扰乱细胞的空间,改变了扩散渠道,挤开了一些亚微结构,因之可能对细胞有害。总之,这一问题有待深入研究。

3. 线粒体的变化 哺乳类线粒体的年龄变化前人工作颇多矛盾,在生化研究方面尤其如此。可能是由于不同作者所用方法实验动物及年龄不同所致。况且有时没有把局部胞内因素考虑进去^[47]。一般说来,线粒体数量随年龄减少^[58,23]。戴维斯(Davis)等观察老年小鼠下丘脑神经内分泌细胞发现在正常情况线粒体数量似无年龄差异,但老年鼠在渗透负荷的应激状况下线粒体大量减少^[48]。在形态上可见线粒体在老年常增大变形,嵴与基质减少或出现空泡^[58]。在生化方面,利用分离技术从大鼠不同材料证明线粒体第三态呼吸在老年下降^[2,21];但也有人用大鼠脑进行研究看不到第三态呼吸变化。可见在生化方面的研究确实缺乏一致的结论。

4. 细胞其它的变化 就整个细胞论,树突及树突棘的减少常在老年脑的银染标本上看到。3—29月龄的大鼠视觉皮层锥体细胞树突棘减少40%^[5]。就胞质内部论,尼氏体有随年龄减少的趋势^[45]。光学显微镜下的尼氏体在电镜下为颗粒内质网的集中,随年龄增加大鼠某些神经细胞颗粒内质网小池分散^[33]。用分光光度计定量,发现老年神经细胞内RNA含量下降,这同尼氏体减少是一致的。至于溶酶体的年龄变化迄今还少有确切的研究报道。关于高尔基体的年龄变化,在电子显微镜下除有人报道在心肌细胞内随年龄增长而增多外^[72],在神经细胞尚未见报道。费尔德曼(Feldman)^[24]在电子显微镜下看到大脑皮质第IV层锥体细胞的突触减少,特别是轴棘突触减少显著,邦达瑞夫(Bondareff)^[8]报告27个月大鼠海马回的突触比3个月大鼠平均减少27%。有人^[5]研究了老年大鼠小脑的神经突触,看到突触接触带表面密度,单位面积突触接触带表面密度,单位面积突触接触带的总长度,突触数密度等均下降。

5. 胞核的变化 早期研究在光学显微镜下看到老年人和动物的神经细胞核固缩变小[库连贝克(Kuhlenbeck)]^[40]。在电子显微镜下对

胞核的年龄变化研究很少，仅有人报告过小鼠脑灰被年老时胞核形状倾向不规则，核膜内陷，形成皱襞，有时核内出现平行或成束的神经微丝构成棒状或片状物质^[70]。总之，还没有在衰老的细胞内从形态上总结出胞核典型的年龄变化。不过胞核内 DNA 与染色质的年龄变化在近年来颇受注意。有人用核酸酶消化脑皮质神经细胞核后，发现提取的 DNA 长度在年轻人(23—36岁)比老年人(78—85岁)少 29 对碱基，认为这是染色质基本结构改变的证据^[22]。撒尔谟德尔(Sarkander)^[59]发现大鼠成体(12月龄)神经细胞染色质中有 21% 是转录活跃的，在老年(30月龄)只有 13% 活跃，认为是染色质结构的老年改变限制了转录活跃的染色质含量。撒尔谟德尔还发现与 DNA 或组蛋白有联系的非组蛋白蛋白(NHP)在转录活跃的染色质组分比在不活跃组分含量要多些，而 NHP:DNA 比值则随年龄下降，在活跃组分尤其明显。至于组蛋白，罗什坦(Rothstein)认为在定性方面缺乏可靠的年龄变化，在定量方面变化也很微小，撒尔谟德尔的研究却发现老年神经元的转录活跃染色质组分中组蛋白加倍乙酰化^[59]。戴维斯认为研究结果的差异可能是方法问题，如果缺乏合适的组分分离技术，则不易查明染色质结构与功能的年龄变化^[49]。

6. 胞膜的变化 对细胞功能来说，胞膜有重要作用，因此也有一些工作研究胞膜结构与功能的年龄变化。在膜的组成方面，不同组织同类型的膜有比较恒定的年龄变化，但同一组织内不同膜之间的年龄变化似无明显的相关性。一般说来，随年龄增长膜上胆固醇与磷脂比值上升，可能影响膜的流动性。在膜蛋白中，可见 2—12 月龄大鼠的 ATP 酶活性下降，在 24—28 月龄则又上升，结果老年大鼠的 ATP 酶活性高于年轻鼠。钙的运输从 12 月龄后似乎上升。膜结合的 5'-核苷酸酶在 6 月龄与 22—29 月龄之间活性下降。还有一些关于膜脂组成，膜结合酶以及激素受体的年龄变化的研究，但结果很不一致。

以上就神经细胞概述了体内细胞的衰老变

化。其它长寿固定分裂后细胞，如心肌和骨骼肌也都有一些衰老表现。脂褐素堆积很普遍，特别在老人心肌细胞核两端的胞质区有大量脂褐素堆积。此外，有人认为如卵母细胞，胎盘细胞都具有在某一时间条件下退化的规律性，都可归为固定分裂后细胞，其衰老变化也是值得注意的。

二、离体细胞的衰老

研究离体培养的细胞可以摆脱体内环境的复杂影响，从而可以测定人为的环境因子产生的效应。况且从不同年龄供体取材观察其繁殖的特性有助于了解内在的细胞衰老过程。但离体细胞有无衰老现象是首先要解决的问题。

(一) 细胞衰老模型的建立 自从海弗利克和穆尔黑德(Hayflick and Moorhead)，发表了多年来培养人胚肺二倍体成纤维细胞(HEL F)的工作以后，体外培养细胞有一定寿限的事实才被普遍地承认。以后海弗利克又在不同场合总结了这方面的研究，从而确立了 HEL F 可作为细胞衰老模型的概念。大致的培养过程是取自三个月龄人胚肺组织二倍体成纤维细胞，在 36℃ 接种后数小时细胞开始贴附瓶壁，一天多即开始分裂，当其长满瓶壁并因接触性抑制而停止成层生长后即按 1:2 稀释并接种于新瓶培养，到再次布满新的瓶壁时，细胞数经增殖应约为接种时的二倍，称其为完成一代倍增(Doubling)。按此不断分瓶，达到接近 50±10 代倍增时生长速度变慢，该细胞系在早期 3—4 天就可以长满培养瓶底壁，到晚期则需要更长的时间，终至分瓶后再也不能成单层布满瓶壁。此时不论如何更新培养介质，细胞总是经过各种各样退化过程而死亡，因此证明细胞死亡是一种先天性现象。海弗利克把整个培养过程分为三期(Phase)：即 Phase I 为初始培养；Phase II 为自第一次分瓶后逐代分瓶的旺盛增殖期；Phase III 为细胞生长渐缓，分裂减少乃至终止的时期。实验证明细胞始终未曾癌变。Phase III 则是接近一定寿限的衰老期。20 年来的大量工作证明 HEL F 具有以下特性：

1. HELF 寿限长短与供体年龄有密切关系。取自供体年龄大者则 HELF 在体外培养的代数少,但非严格反比^[46,62]。

2. 随意在某一代龄将 HELF 冻存在-70℃,数月后解冻复苏,则继续存活的代龄数只能是50代减去冻存前的代龄数之差,表明总代数是细胞本身固有的。到1976年海弗利克已从经冻存的130个安瓶原代细胞择时解冻陆续培养了14年之久,每瓶均只能培养50代左右。

3. 以性染色体作标志,区分来自雌性或雄性个体的细胞。把分别培养到不同代龄的雌、雄细胞各取一定数量混在一起培养,结果经若干代后,发现只有来自代龄低的细胞仍在传代,而来自代龄高的细胞培养不久即死尽,而且两者存活代龄与各自对照组的同性细胞所传代数一致,证明细胞的死亡不是培养介质的误差。

4. 不同寿命的供体其成纤维细胞培养代数不同,与供体寿命似呈正相关。在物种间,如人的寿命约为110岁,HELF 培养代龄为40—60代;小鼠寿命约3.5岁,培养细胞代数仅为14—28代。此外,人的早老症患者其寿命与健康人不同,因之,早老症患者的皮肤成纤维细胞只能培养两代,至多亦仅为20代。

5. 把不同代龄的细胞核、质分开,进行杂交重组,发现具高代龄细胞核的杂种细胞传代次数少,具低代龄细胞核的杂种细胞培养代数多,而胞质代龄对杂种寿命似无影响,表明决定寿命的“生物种”在胞核^[32]。

(二) HELF 的衰老变化

1. 细胞体积的变化·西门子(Simons)首先指出Phase III 细胞体积常大于Phase II 细胞,另一些作者也报道了晚代细胞比早代细胞大^[27],包曼(Bowman)^[9]等证明进行有丝分裂的细胞不论代龄如何体积稳定在4300立方微米(μm^3),不能分裂的保持在单层的细胞则超过5000立方微米(μm^3),结论是细胞进入Phase III 时,体积增大与分裂能力丧失相关。晚代培养中可区分出两个细胞亚群,即较小的能增殖的细胞与较大的分裂后细胞,说明衰老的培养细胞群体并

不是均一的,研究其衰老时应考虑到这种异质性^[71]。

2. 胞核大小与形态 三井和施奈德(Mitsui and Schneider)看到随着 HELF 增殖能力的下降胞核增大,各代增殖迅速的细胞亚群中胞核都小于分裂慢或不分裂的亚群细胞的胞核^[49]。晚代胞核不但变大而且形状趋于不规则,有若干内陷或呈多叶状^[43]。

3. 胞质内的胞器 晚代 HELF 高尔基氏器与溶酶体数量增多^[43,57], 线粒体与颗粒内质网总量似有所下降而密体(脂褐素)增多。有的密体含许多颗粒,可具空泡;有的含许多膜成同心排列。老细胞内特别明显的是出现大量微丝^[36]。

4. 生化变化 Phase III 细胞在生化上有很多变化。简单说来 RNA 与 DNA 合成速度及 DNA 修复能力皆下降,蛋白质与 RNA 含量则上升^[54,55,63]海弗利克^[44]研究了各种特异的酶,列表分别记录了在衰老时上升、下降及不变的各种参量。任举数例,如,酸性磷酸酶、 β 葡萄糖苷酸酶、酯酶等均上升;碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶、糖解酶等则下降;而呼吸酶、谷氨酸脱氢酶、超氧化物歧化酶则不变。但不同作者的结果未必一致。

5. 其它变化 成纤维细胞有自发荧光随着代龄增加,这可能是脂褐素在胞内积累所致;成纤维细胞可以吸附外被刀豆球蛋白 A (ConA) 的红细胞,这种能力随代龄增加而加强;在分瓶培养时,能够形成群落的细胞在接种细胞总数中所占百分比随代龄增加而下降。这三项变化分别反映了细胞内容、表面及增殖能力的代龄差异。由于这些变化各自的连续性比较明显,因此被认为是成纤维细胞衰老的良好标志^[24]。

(三) 关于体外培养细胞作为衰老模型的争论 虽然许多实验已经证明人二倍体成纤维细胞有一定寿限,但对把这一现象归因于细胞衰老从而建立衰老模型还是有不同意见的。持反对意见者主要是:(1) 怀疑这种体外现象能否推论到体内的衰老^[53];(2) 认为这不是衰老而是细胞停止分裂后的分化^[4];(3) 认为这不

过是强加于细胞的培养条件下造成的假相。这类争论今后还要继续下去,不过正常人二倍体细胞在连续培养传代下会失去增殖能力,对此点却没有争论。况且从倍增代数与供体寿命的关系来看,早已证明体外细胞衰老与体内衰老密切相关,因此利用这种培养细胞作为衰老模型之一来研究衰老机理,检验各种衰老学说还是有一定意义的。特别是实验证明细胞衰老并非不可改变,如介质中加入生理水平的考地松则可推迟细胞衰老;又如使二倍体细胞与癌细胞融合则可复活 DNA 的合成^[52]。因此以这类实验为探针来了解潜在衰老调控系统也是深入研究衰老机理的一个途径。

三、细胞衰老学说

有关细胞衰老的学说很多,大致分为两类,即程序衰老说与随机性损伤说。

(一) **程序衰老说** 此说认为衰老是由某种遗传程序规定的,犹如动物种属的最高寿命由遗传决定一样。换言之,衰老现象是按照一种所谓生物钟的支配渐次表现出来的,前述通过胞核体与胞质体的杂交重组似已证明生物钟位于胞核。但胞核如何控制衰老程序还不清楚,推测有以下几种可能性:

1. 有专门的衰老基因按时活跃地表达。佐恩和史密斯(Zorn and Smith)^[62]估计为培养细胞第 III 期编码的“钟”可能在一两条或一组染色体上,为了定位可以用老细胞中不同的染色体组通过细胞杂交移植到年轻细胞中去,观察对杂种细胞存活的影响,鉴别那些是与第 III 期不相干的染色体,把它排除于衰老基因载体之外,从而鉴别出携带“生物钟”的染色体。在这方面已有一些工作,似乎有可能选择性地使一种细胞的染色体加到另一型细胞去,结果基因表达了在移植的染色体上所含的信息,这种实验在继续深入,一旦有所突破则衰老基因就不是不可捉摸了。

2. 基因密码受到抑制。细胞所合成的蛋白类型取决于细胞可利用的遗传信息,即细胞密码的类型。各种细胞系内密码组相继被激活被

抑制,才能合成发育中某一阶段所需要的蛋白成分。到了细胞发育分化以后的某一生命阶段,合成继续维持生命所必须的蛋白质的基因密码受到抑制,从而使细胞失去转译遗传信息的能力。实验根据有人观察到衰老时细胞内的 tRNA 合成酶类型有所改变,也可能随年龄增长原先由细胞解码和利用的信息不再能理解了^[66]。冯哈恩(Von Hahn)证明老动物细胞内组蛋白与染色质结合比年轻者紧密,结果是在 DNA 分子的专门部位编码的信息关键区域不再能利用了^[78]。这都可以归属于所谓“密码限制”说,不过要充分肯定这一理论还有待更直接的证据。

3. 重复基因的耗损 有人认为真核生物基因组 DNA 顺序的重复对防止退化,增加基因信息功能及使基因信息免遭随机性分子损害都有重要意义。这种重复基因的减少可能是决定衰老的因素。不过这一理论的证据还远远不够。卡特勒(Cutler)^[66]根据培养细胞的工作并未证明 DNA 顺序重复水平与哺乳类寿命有直接关系,但有些关键性基因重复拷贝有限(如血红蛋白及组蛋白的基因)可能有决定寿命的作用。他认为用体内细胞进行研究可能会得到更确切的数据^[77]。

4. DNA 修复系统的缺陷 自然条件下基因的损伤在所难免,但细胞有修复损伤的能力。不同寿限的动物细胞在紫外线照射后修复 DNA 损伤的效能不同。哈特和赛特罗(Hart and Setlow)^[81]的工作,证明长寿动物的修复系统更为有效,因此开展加强修复能力的实验是进一步认识这一机理以及抗衰老的途径。

(二) **随机性损伤说** 所谓细胞的随机性损伤包括多种,但其共同点是慢慢积累,导致细胞大部功能丧失以致最终死亡。有些学说涉及专门的损伤,如氨基酸的消旋作用^[20],毒性代谢产物的堆积^[67],大分子的交联^[6],自由基引起对大分子与胞膜的损伤等等;另有一些学说则涉及广泛的损伤,如体细胞突变^[44],蛋白质错误^[53]。前者主张衰老源于多种 DNA 突变的积累,后者主张在细胞内把 DNA 密码转译为蛋

白质的体系中, 随机产生的错误反馈地引起更多的错误, 造成灾难, 导致衰老。

各种损伤学说的支持者都能从实验中提出一些证据, 但构成衰老原发机理的损伤应是对细胞功能有根本性影响的损伤。显然遗传信息的瓦解或其转译破坏可使细胞所有功能受损。因此, 体细胞突变和错误成灾的理论似乎更值得注意。但实验证明在自然条件下产生的突变机率很低, 还不足以构成衰老的原发机理。至于错误成灾说, 有人证明人成纤维细胞在培养中随传代次数增加 DNA 聚合酶的可靠性下降^[42,51]。还有其它一些支持此说的试验^[34]。不过也有反面的结果。目前对错误成灾说的看法殊多矛盾^[49,25,41]。除了问题复杂之外, 特别是要检出和测量罕见微小的错误, 须有先进的技术和精密的实验设计, 这是有待解决的问题。

四、结 束 语

综上所述, 可见细胞衰老从现象到机理都有很多尚待解决的问题。总的趋势是越来越多的工作倾向于在分子水平探索衰老的机理。特别是注意到胞核内的衰老变化, 诸如染色体外环 DNA 的发现^[56,81], 核内多肽—S-30 抗元的研究^[79], DNA 单股断裂与衰老关系的研究^[55], 可杂交的 DNA 序列^[61]以及循序转录失调的研究^[60]等等, 似皆企图在基因及核内蛋白质方面取得突破性进展。不过衰老问题极为复杂, 人们从细胞与分子水平对衰老的认识还远远不够, 对有志于衰老生物学研究的科学工作者来说, 这的确是一个大有可为而又任重道远的领域。

参 考 文 献

[1] 王焕葆等 1986. 动物学报 32(3):
[2] Abu-Erreish, G. M. 1978. *Exp. Gerontol.* 15: 575.
[3] Airey, C. M. 1983. In: "The Biomedical Basis of Gerontology" Ed. Hall, D. A. et al. Leed Univ. Wright P. S. G. Inc. 190—208.
[4] Bell, E. et al. 1978. *Science* 202(4373): 1158.
[5] Bertoni-Freddari, Carlo et al. 1981. 12th Int. Congr. Gerontol. Abs. 2: 152.
[6] Bjorksten, J. 1968. *J. Am. Geriatr. Soc.* 16: 408.
[7] Blackett, A. D. et al. 1981. *J. Gerontol.* 36: 529.

[8] Bondareff, W. et al. 1976. *Am. J. Anat.* 145: 129.
[9] Bowman, P. D. et al. 1975. *Exp. Cell Res.* 93: 184.
[10] Brizzee, K. R. et al. 1970. *Acta Neuropath.* (Berl.) 16: 205.
[11] Brizzee, K. R. et al. 1974. *J. Gerontol.* 29: 366.
[12] Brody, H. 1970. In: *Interdisciplinary Topics in Gerontology.* 7: Ed. Blumenthal, H. T., Karger, Basel/München.
[13] Bugiani, O. et al. 1978. *Eur. Neurol.* 17: 286.
[14] Burnet, F. M. 1974. In: *Intrinsic Mutagenesis: A genetic approach to Agcing.* John Wiley & Sons. New York.
[15] Cristofalo, V. J. et al. 1970. In: *Organic, Biological and Medicinal Chemistry.* 2: Eds. Gallo, V. et al. Amsterdam. N. Holland.
[16] Cutler, R. G. 1972. *The Gerontologist* 12: 40.
[17] Cutler, R. G. 1982. In: *Testing the Theories of Aging.* Eds. Adelman, K. C. et al. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida 26—96.
[18] Davies, I. et al. 1984. *Mech. Age. Dev.* 26(2,3): 299.
[19] Davies, I. 1984. In: *Cell Aging and Cell Death.* Eds. Davies, I. et al. Cambridge Univ. Press. 74—103.
[20] DeLong, R. et al. 1977. *J. Theor. Biol.* 67: 111.
[21] Deshmukh, D. R. et al. 1980. *Mech. Age. Dev.* 13: 75.
[22] Ermini, M. et al. 1978. *Akt. Gerontol.* 8: 675.
[23] Fahim, M. A. et al. 1982. *J. Neurocytol.* 11: 641.
[24] Feldman, M. L. 1976. In: *Neurobiology of Aging.* 3: Eds. Terry, R. et al. Raven Press. New York.
[25] Gallant, J. A. 1981. In: *Biological Mechanisms of Aging.* Ed. Schimke, R. T., Bethesda NIH. 373—381.
[26] Goyal, V. K. 1982. *Exp. Gerontol.* 17(6): 481.
[27] Greenberg, S. B. et al. 1977. *In vitro* 13: 297.
[28] Hall, T. C. et al. 1975. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1: 261.
[29] Handerson, G. T. et al. 1980. *J. Neurol. Sci.* 46: 113.
[30] Hanley, T. 1974. *Age and Ageing* 3: 133.
[31] Hart, R. W. et al. 1974. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 71: 2169.
[32] Hayflick, L. 1977. In: *Handbook of the Biology of Aging.* Eds. Finch, C. E. et al. p. 180. Von Nostrand, Reinhold Co. N. Y.
[33] Hinds, J. W. et al. 1978. *Am. J. Anat.* 152: 433.
[34] Holliday, R. 1984. In: *Cellular Aging.* Ed. Sauer, H. W., Karger, Basel.
[35] Icard, C. et al. 1980. *Mech. Age. Dev.* 14: 81.
[36] Johnson, J. E. Jr. 1979. *Mech. Age. Dev.* 10: 405.
[37] Katz, M. L. et al. 1978. *Invest. Ophthal. Vis. Sci.* 17: 1049.
[38] Königsmark, B. W. 1969. *Anat. Rec.* 163: 212.
[39] Königsmark, B. W. et al. 1972. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 31: 304.
[40] Kuhlback, H. 1944. *Anat. Rec.* 88: 441.
[41] Laughrea, M. 1982. *Exp. Gerontol.* 17: 305.
[42] Linn, S. et al. 1976. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 73: 2818.
[43] Lipetz, J. et al. 1972. *J. Ultrastruct. Res.* 39: 43.
[44] Low, P. A. et al. 1977. *Acta Neuropathol.* (Berl.) 40:

- 55.
- [45] Mann, D. M. et al. 1974. *Brain*, **97**: 481.
- [46] Martin, G. M. et al. 1970. *Lab. Invest.* **23**: 86.
- [47] Miquel, J. et al. 1980. *Exp. Gerontol.* **15**: 575.
- [48] Miquel, J. et al. 1977. In: *Free Radicals in Biology*. 3: Ed. Pryor, W. A. 133—182.
- [49] Mitsui, Y. et al. 1976. *Exp. Cell Res.* **100**: 47.
- [50] Monagle, R. D. et al. 1974. *J. Comp. Neurol.* **155**: 61.
- [51] Murry, V. et al. 1981. *J. Mol. Biol.* **146**: 55.
- [52] Norwood, T. H. et al. 1975. *J. Cell Biol.* **64**: 551.
- [53] Orgel, L. E. 1973. *Nature* **243**: 441.
- [54] Petes, T. D. et al. 1974. *Nature* **251**: 434.
- [55] Raychaudhuri, O. et al. 1971. *Science* **173**(4001): 1028.
- [56] Robberson, D. L. et al. 1982. In: *Perspectives on Genes and the Molecular Biology of Cancer*. Univ. Texas. Houston 5—6.
- [57] Robbins, E. et al. 1970. *J. Exp. Med.* **131**: 1211.
- [58] Samorajski, T. et al. 1971. *J. Gerontol.* **26**: 542.
- [59] Sarkander, H. I. 1983. In: *Brain Aging: Neuropathology and neuropharmacology*. Raven Press, New York. 301—327.
- [60] Sarkander, H. I. 1984. In: *Cellular Aging*. Ed. Sauer, H. W. Karger Basel. 158.
- [61] Schmoekler, Reis, R. T. et al. 1980. *Cell* **21**: 739.
- [62] Schneider, F. H. 1976. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **73**: 3584.
- [63] Schneider, E. L. et al. 1975. *Mech. Age. Dev.* **4**: 449.
- [64] Shefer, V. F. 1973. *Neurosci. Beh. Physiol.* **6**: 319.
- [65] Sheldrake, A. R. 1974. *Nature* **250**: 381.
- [66] Shock, N. W. 1981. In: *Handbook of Biochemistry in Aging*. Ed. James R. Florini, CRC Press. 272.
- [67] Siakotos, A. et al. 1977. In: *The Aging Brain and Senile Dementia*. Eds. Nandy, K. et al. Plenum Press, New York. 99—118.
- [68] Siakotos, A. et al. 1973. *Mech. Age. Dev.* **2**: 177.
- [69] Sohal, R. S. et al. 1978. *Exp. Gerontol.* **13**: 335.
- [70] Sturrok, R. R. 1977. *J. Gerontol.* **32**(6): 647.
- [71] Thomas, B. P. et al. 1984. In: *Aging and Cell Structure*. 2: Ed. Johnson Jr, J. E. Plenum Press, New York. 95.
- [72] Tomanek, R. J. et al. 1973. *J. Ultrastruct. Res.* **42**: 201.
- [73] Tomlinson, B. E. et al. 1970. *J. Neurol Sci.* **11**: 205.
- [74] Tomlinson, B. E. et al. 1976. In: *Neurobiology of Aging*. Eds. Terry, R. D. et al. Raven Press, New York. 183.
- [75] Tomlinson, B. E. et al. 1977. *J. Neurol. Sci.* **34**: 213.
- [76] Vijayashanker, N. et al. 1977. *Acta Anat.* **99**: 169.
- [77] Vijayashanker, N. et al. 1979. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **38**: 490.
- [78] von Hahn, H. P. 1981. In: *Advances in Gerontology Research*. **3**: Ed. Strehler, B. L. Acad Press, New York.
- [79] Wang, E. 1986. *J. Cell Biol.* **100**(2): 545.
- [80] Wilkinson, A. et al. 1978. *Age & Ageing* **7**: 151.
- [81] Youji Mitsui et al. 1985. In: *13th Int. Cong. Gerontol. Abstracts Book*. 346.
- [82] Zorn, G. A. et al. 1984. In: *Cell Cycle Clocks*. Ed. Edmunds Jr., L. N. Marcel Dekker Inc. New York. 557—579.