Journal de la Société de Biologie, 195 (2), 125-130 (2001)

Élastine et élastases. Passé, présent et avenir

par L. Robert

Laboratoire de Recherche en Ophtalmologie, Hôtel Dieu, 1 Place du Parvis Notre Dame, 75181 Paris cedex 04

Reçu le 17 janvier 2001

RÉSUMÉ

La matrice extracellulaire (MEC) est composée d'un grand nombre de macromolécules appartenant à quatre grandes familles, les collagènes, l'élastine, les protéoglycannes et les glycosaminoglycannes et les glycoprotéines de structure. Les représentants de 3 de ces 4 familles sont apparus à l'époque de l'explosion cambrienne, avec les Invertébrés et en particulier avec les spongiaires. L'élastine par contre n'est apparue qu'avec les Vertébrés. Elle est aussi la première à subir des modifications post-synthétiques la privant de ses capacités rhéologiques essentielles. Son émergence et son déclin, dont les mécanismes ont été en grande partie élucidés, permettent de mieux comprendre les phénomènes qui président au développement des capacités physiologiques essentielles des systèmes circulatoire et respiratoire des Vertébrés, et aussi à leur déclin progressif au cours du vieillissement.

SUMMARY Elastin, elastases. Past, present and future

Extracellular matrix (ECM) is composed of a large number of macromolecules belonging to one of the four classes comprising ECM, collagens and elastin, the fibrous elements, proteoglycans and glycosaminoglycans and structural glycoproteins. Three of these 4 classes emerged during the Cambrian explosion, at the level of the first invertebrates, the sponges. Elastin appeared only in vertebrates. This protein is also the first to undergo post-synthetic modifications responsible for the progressive loss of its essential rheological properties involved in its physiological functions in the circulatory and respiratory system of vertebrates. The essential mechanisms of its emergence and decay are sufficiently understood in order to integrate them in the processes of development and age-dependent decay of organisms.

INTRODUCTION

La matrice extracellulaire (MEC) est apparue dans toute sa complexité dès les premiers Invertébrés pluricellulaires et en particulier les spongiaires. L'émergence de ces formes de vie pluricellulaire organisée se situe quelque part entre le précambrien et le cambrien vers les 600 millions d'années avant notre ère. L'émergence « soudaine » d'un grand nombre d'espèces animales avec une organisation pluricellulaire étonnamment complexe a suggéré le terme « d'explosion cambrienne » (1). Est apparu à cette époque et avec ces animaux le collagène sous des formes multiples comme l'a montré leur étude morphologique et plus récemment la séquence des gènes de plusieurs variantes (2, 3). Un grand nombre de polysaccharides, acides et neutres sont apparus en même temps, les ancêtres des glycosaminoglycannes (comme l'hyaluronane, synthétisé déjà par certaines bactéries) et protéoglycannes des Vertébrés (4, 5). Nos travaux avec Robert Garrone ont montré l'apparition simultanée des glycoprotéines de structure. En effet, les anticorps anti-fibronectine humaine ont permis de détecter la fibronectine chez les éponges (6). Contrastant avec la précocité d'apparition de 3 des 4 grandes familles des macromolécules de la MEC, l'élastine n'est pas détectable avant les Vertébrés (7). Des protéines ayant quelques ressemblances avec l'élastine des Vertébrés ont été caractérisées chez les Chordates par Keeley (8) sans pour autant en posséder les propriétés essentielles et en particulier l'élasticité. Le gène de l'élastine, avec ses particularités, qui seront décrites dans ce volume par Marie-Paule Jacob se retrouve chez tous les vertébrés étudiés, de la Souris à l'Homme, avec un « plan de construction » similaire, comportant des exons codant des séquences d'amino acides hydrophobes ainsi que des exons avec des séquences riches en lysine, précurseurs des amino acides du pontage caractéristique de l'élastine, la desmosine et l'isodesmosine (voir pour une revue (9)).Cette structure particulière du gène de l'élastine permet de comprendre à la fois ses propriétés fonctionnelles essentielles ainsi que ses interactions avec les lipides et le calcium, interactions impliquées dans la perte de ses fonctions essentielles au cours du vieillissement.

STRUCTURE DE L'ÉLASTINE

La structure très particulière de l'élastine a été suggérée dès les premières analyses de sa composition en amino acides : plus de 90 % des amino acides entrant dans sa composition sont non polaires (9). À l'instar des collagènes fibrillaires, l'élastine comporte aussi environ 30 % de glycine (chaque 3e résidu dans la séquence triple hélicoïdale des collagènes et dans de longues séquences de l'élastine). Contrairement aux collagènes, l'élastine ne contient que très peu d'hydroxyproline (1-1,5 % environ). En apparente contradiction avec cette composition en aminoacides monotones, l'élastine s'est avérée être la protéine la plus résistante de l'organisme. On la purifie couramment par ébullition dans la soude 0,1 N pendant 45 minutes, des tissus au préalable débarrassés des composants solubles par extraction avec des tampons neutres à force ionique élevée (9 pour revue). Dès le début des années 1960, nous avons proposé comme explication de cette extraordinaire résistance de l'élastine, la stabilisation de sa structure tertiaire et quaternaire par des interactions hydrophobes (10, 11). Cette proposition a été confirmée par la démonstration de la rapide « déstabilisation » de l'élastine en présence de solvants organiques pouvant interférer avec les interactions hydrophobes des résidus d'aminoacides apolaires de l'élastine (12, 13). Ces études ont permis la mise au point d'une méthode de préparation de peptides solubles de l'élastine, la k-élastine (12). Plusieurs auteurs et en particulier Dan Urry ont confirmé et étendu cette théorie hydrophobe de l'élasticité de l'élastine (14). L'étirement des chaînes peptidiques repliées augmente la surface de contact des résidus hydrophobes avec le solvant, l'eau. Celui-ci prend une structure plus « cristalline » pour minimiser le contact avec la protéine. Ceci implique une augmentation « de l'ordre » (baisse de l'entropie de système) par l'augmentation des ponts hydrogènes entre molécules d'eau et baisse de degrés de liberté, de « libration » des chaînes peptidiques de l'élastine (15). Le retour à la longueur initiale sera donc « spontané » à cause de la déstructuration du solvant et la plus grande liberté de mouvements des chaînes peptidiques. Cette brève description rend compte de l'élasticité de nature entropique de l'élastine (15). Cette protéine est la seule dans l'organisme des Vertébrés à posséder une élasticité similaire à celle du caoutchouc, de nature entropique. À l'instar du caoutchouc, l'élastine devait donc posséder aussi des « ponts » entre ses chaînes peptidiques, sans quoi le retour à la longueur initiale après étirement ne serait pas réalisable. Les ponts disulfure du caoutchouc sont remplacés dans l'élastine par les ponts hétérocycliques de la desmosine et isodesmosine, obtenus par la condensation de 4 résidus de lysine. En inhibant ce pontage, catalysé par la lysyloxydase, enzyme à cuivre, le précurseur soluble des fibres élastiques, la tropoélastine (TE), a pu être isolé et, un peu plus tard, son gène séquencé (voir la note de Marie Paule Jacob dans ce volume). La microscopie électronique des fibres élastiques a révélé l'existence de composants « microfibrillaires » associés aux fibres élastiques (Fig. 1) (16, 17). Les études ultérieures ont révélé un assez grand nombre de glycoprotéines faisant partie de ces microfibrilles dont les fibrillines, l'émiline, les MAGP et d'autres (9). Il est apparu ainsi que la biosynthèse des fibres élastiques est un processus complexe impliquant la synthèse coordonnée des constituants microfibrillaires ainsi que celle de la TE, suivie de son pontage par la lysyloxydase. Bien qu'en grandes lignes, ce processus soit compris, de nombreux détails attendent encore d'être élucidés.

ROLE PHYSIOLOGIQUE

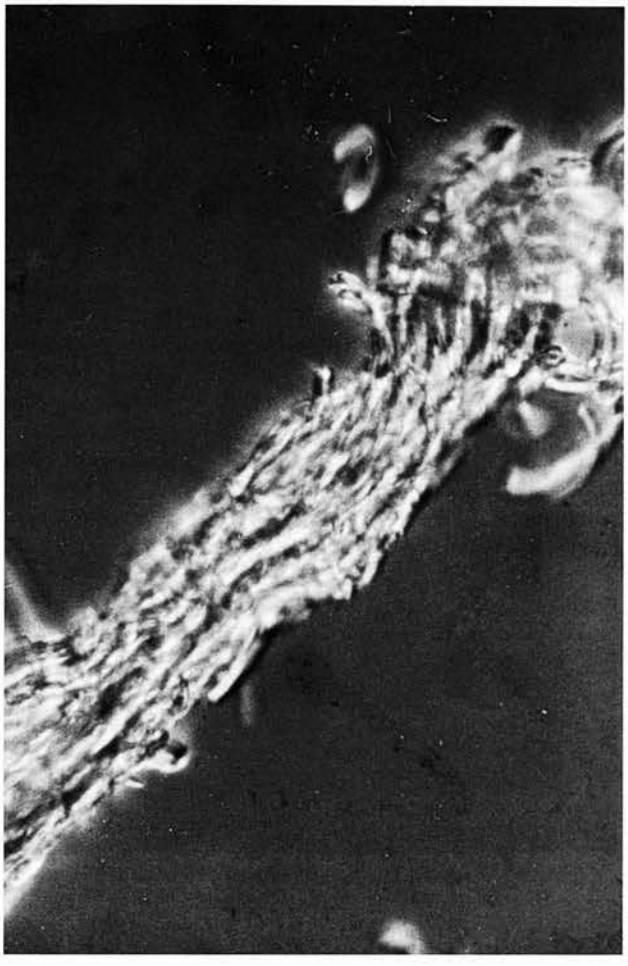
Le rôle physiologique de l'élastine est en rapport étroit avec ses propriétés physico-chimiques. Il y a peu de doute que les capacités de performances physiques des Vertébrés ayant facilité la colonisation d'une grande variété de niches écologiques doivent beaucoup à cette protéine à la fois résistante et élastique. L'élasticité de grosses artères amenant le sang du cœur vers la périphérie permet de diminuer la charge considérable qui pèse sur le muscle cardiaque surtout au cours d'efforts comme par exemple la fuite devant le prédateur. Le retour « spontané » au diamètre original des grosses artères dilatées à chaque systole (effet de « cœur secondaire ») facilite largement la circulation sanguine. Il en est de même de la respiration : les alvéoles pulmonaires dont la paroi est riche en élastine, retrouvent après chaque inspiration leur volume original à la suite du raccourcissement « spontané » des fibres élastiques des parois alvéolaires. Le troisième organe relativement riche en élastine est la peau. Bien que sa teneur en élastine soit de 1 à 3 % seulement chez l'Homme, la peau, par son étendue (> $2m^2$) et son poids considérable (c'est le plus lourd des organes), représente une source riche en élastine. Sa contribution aux propriétés rhéologiques de la peau est essentielle comme le montrent « les changements qualitatifs et quantitatifs du réseau élastique cutané avec l'âge. Les cartilages élastiques comme celui de la trachée par exemple sont aussi riches en élastine, ce qui contribue aux propriétés mécaniques de ces tissus, une grande résistance combinée à une déformabilité et élasticité assurant son ouverture pour permettre le passage de l'air.

Un rôle essentiel de l'élastine dans la genèse vasculaire a pu être démontré grâce aux animaux « knockout » pour le gène de l'élastine (voir exposé de G. Faury dans ce volume).

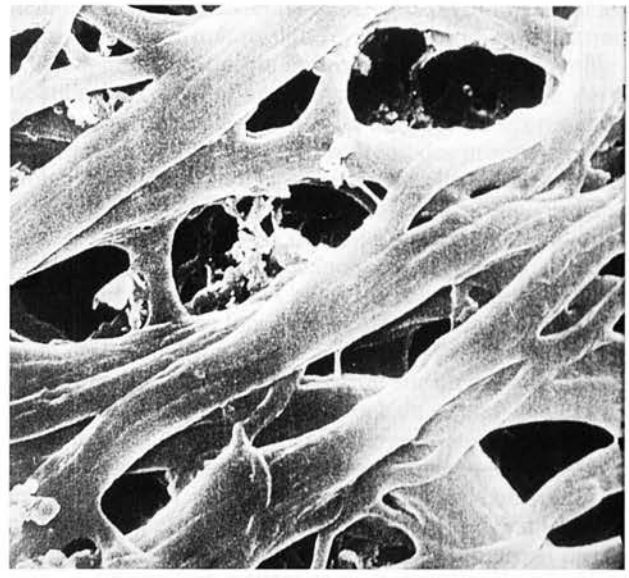
MODIFICATIONS POST SYNTHÉTIQUES

Curieusement, les propriétés physico-chimiques de l'élastine qui sont à la base de son rôle physiologique essentiel, sont aussi directement responsables de leur perte au cours du vieillissement. Ainsi sa nature hydrophobe la prédispose aux interactions avec les lipides. Les conformations en coude ß des peptides hydrophobes

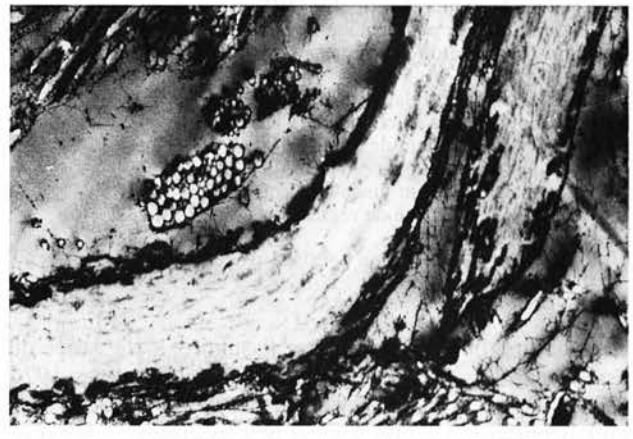
Fig. 1. – Image par microscopie photonique (a), par microscopie électronique par balayage (b) et par microscopie électronique par transmission (c) de fibres élastiques (b, c) et d'élastine purifiée (a).



a



b



c

forment des sites de fixation spécifiques pour le calcium (14). En effet, lipides et calcium s'accumulent progressivement dans les fibres élastiques. Cette accumulation implique des forces résistant à l'ébullition dans la soude 0,1 N au cours de la purification des fibres. Il a pu être montré que le calcium potentialise la fixation des lipides dans les fibres (18). L'étude chimique des lipides déposés dans l'élastine de l'aorte humaine a révélé la présence de toutes les classes de lipides et en particulier une forte accumulation d'acides gras libres (19). Ces interactions font perdre à l'élastine son élasticité entropique et la rendent vulnérable à la dégradation par les élastases. Une autre modification importante est l'enrichissement progressif de l'élastine purifiée à partir d'aortes humaines avec des acides aminés dicarboxyliques (Fig. 2) (20). Ceci doit refléter une association covalente au cours du vieillissement entre l'élastine et composants microfibrillaires.

INTERACTIONS ÉLASTINE - ÉLASTASES

L'étude microscopique d'aortes humaines athéroscléreuses et/ou âgées a révélé la fragmentation progressive des fibres élastiques composant les lames élastiques concentriques (Fig. 3). À part sa résistance physico-chimique remarquable, l'élastine s'est montrée aussi résistante à la plupart des protéases à pH optimal neutre. La première protéase de cette nature pouvant l'attaquer et la dégrader rapidement a été isolée et caractérisée par Balo et Banga à Budapest à la fin des années 1940 (21). Malgré sa forte affinité pour l'élastine sur laquelle cette enzyme s'absorbe rapidement (22), son rôle physiopathologique est restreint à des situations exceptionnelles comme la pancréatite aiguë. La nature lente, progressive, de l'élastolyse tissulaire nous a incités à chercher des protéases différentes, à action lente. La première élastase de

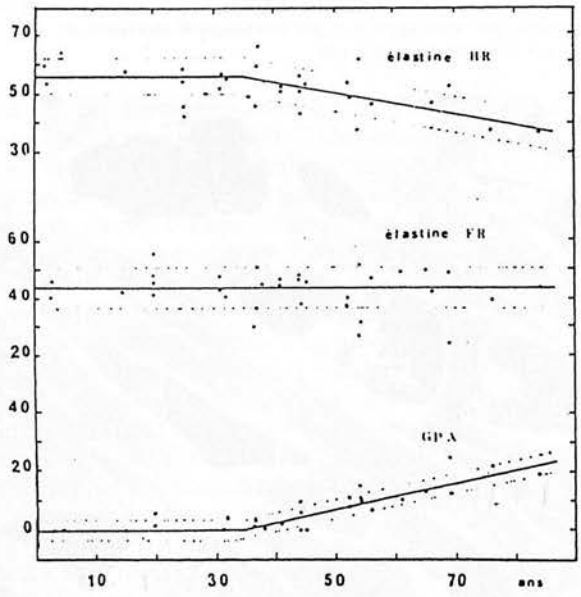


Fig. 2. – Évolution des pourcentages pondéraux d'élastine hautement réticulée, d'élastine FR et des glycoprotéines associées (GPA) dans le résidu élastique en fonction de l'âge (20).
Élastine hautement réticulée (HR) :
Jusqu'à 32 ans, pourcentage constant de 56,2 p. 100 (± 6,9).
Après 32 ans, droite de régression $y = -0{,}36x + 68{,}1$
Ecart-type $\sigma = 4{,}1$
Coefficient de corrélation $r = 0{,}65$ $p < 0{,}01$
Elastine faiblement réticulée (FR) :
Pourcentage constant de 44,4 p. 100 (± 6,3)
Glycoprotéines associées (GPA) :
Pourcentage constant jusqu'à 31 ans
Après 31 ans : Droite de régression $y = 0{,}42 \times 13{,}2$
Ecart-type = 3,3
Coefficient de corrélation $r = 0{,}87$, $p < 0{,}001$

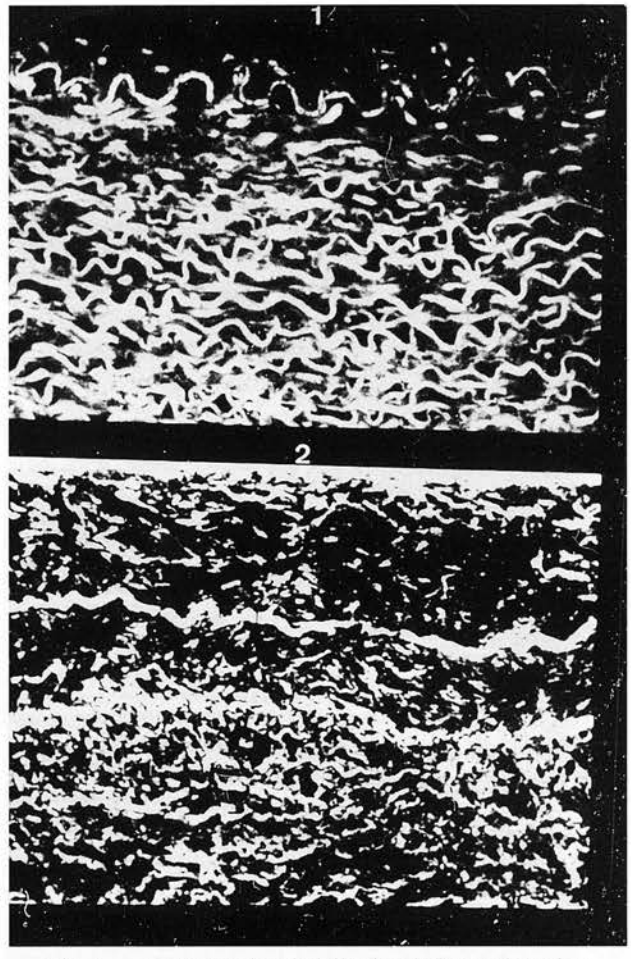


Fig. 3 . – Fragmentation de l'élastine de l'aorte humaine au cours du vieillissement (d'après la référence 42).

cette nature, une endopeptidase tissulaire, a été isolée de l'aorte dans notre laboratoire au début des années 1970 (23, 24 et Fig. 4). Ce nouveau concept des élastases, des endopeptidases à action lente et peu spécifique, a fait progressivement son chemin. De nos jours, plusieurs MMP à action élastolytique ont été identifiées (MMP-2 et 9 en particulier) et leur rôle physiopathologique étudié (voir les exposés de Michèle Reboud et Marie-Paule Jacob dans ce volume). Le phénomène de régulation le plus important à cet égard a été la démonstration de l'augmentation progressive de l'activité des élastases au cours du vieillissement, *in vivo* et *in vitro* (25, 26). Cette expression croissante de ces enzymes avec le nombre de passage des cellules – fibroblastes et cellules musculaires lisses – et l'amplification de ce phénomène au cours du développement de l'artériosclérose (25-27) a permis de comprendre, en termes cellulaires et moléculaires, la perte d'élasticité des tissus et ses implications physiopathologiques.

INTERACTION CELLULES - ÉLASTINE

Depuis la démonstration du rôle des glycoprotéines de structure comme la fibronectine dans les interactions entre

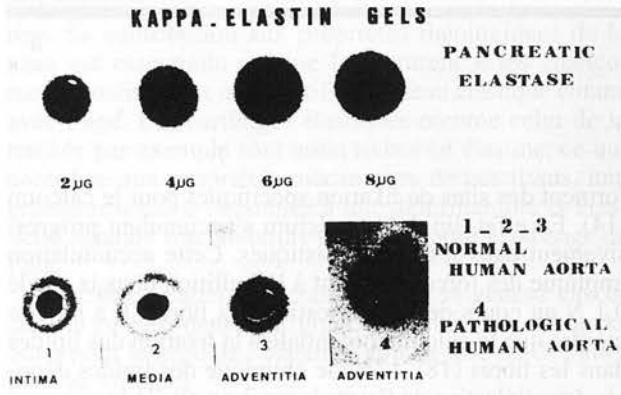


Fig. 4. – Démonstration de l'activité élastolytique des extraits d'aortes humaines. Des extraits obtenus avec des tampons neutres (PBS) ont été déposés dans des godets sur des plaques recouvertes de k-élastine dans l'agarose. En haut, courbe d'étalonnage avec l'élastase pancréatique. En bas à gauche : extraits d'une partie saine (sans plaque d'athérome) d'aorte humaine (50 ans) des concentrations indiquées entre parenthèses en protéines, d'extraits de l'intima (8 µg), média (24 µg) et de l'adventice (24 µg). En bas à droite : extrait de l'adventice d'une partie de la paroi artique portant des plaques d'athérome (7,2 µg) ; les plaques de lyse correspondent (dans l'ordre des dépôts) à 16 µg, 17 µg, 5 µg et 32 µg d'équivalent d'élastase pancréatique (d'après la référence 43).

cellules et matrice extracellulaire (28 pour revue) il est apparu que ces processus nécessitent la présence et la médiation par des récepteurs spécifiques. La plupart de ces interactions sont médiées par des récepteurs de la classe des intégrines (28). Aucun récepteur de ce type n'a été signalé pour l'élastine. Nos recherches ont démontré l'existence de récepteurs réagissant avec des peptides dérivés de l'élastine et médiant un certain nombre de processus physiologiques comme l'adhérence des cellules aux fibres élastiques (29), l'attraction chimiotactique des cellules vers un gradient de peptides d'élastine, la décharge d'enzymes lytiques et de radicaux libres de cellules mononucléées, l'augmentation de la production d'endopeptidases de type élastase par les fibroblastes et les cellules musculaires lisses (30, 31) ainsi qu'une vasodilatation $NO^{\cdot}$ et endothélium-dépendante (32).Le rôle physiopathologique du récepteur de l'élastine a été étudié dans notre laboratoire depuis les années 1980 ainsi que dans celui de Bob Mecham à Saint Louis dans le Missouri aux USA qui a montré avec A. Hinek sa réaction avec la laminine aussi (33) ainsi que son inhibition par le lactose (34). Ces travaux ont largement confirmé l'importance physiopathologique du récepteur de l'élastine-laminine (voir aussi l'exposé de T. Fülöp dans ce volume).

ÉLASTINE – ÉLASTASES ET VIEILLISSEMENT

Ce bref rappel des propriétés physico-chimiques de l'élastine rend logique son rôle dans le déclin des fonctions physiologiques mentionnées au cours du vieillissement. Il a pu être montré que les différentes fonctions physiologiques déclinent avec des vitesses très différentes au cours du vieillissement (35). Ce phénomène résumé par l'expression « vieillissement en pièces détachées » a mis en exergue le déclin rapide des fonctions « élastiques » des tissus : perte rapide du pouvoir d'accommodation du cristallin, déclin de la capacité vitale pulmonaire, perte d'élasticité des parois vasculaires (35, 36). Ces phénomènes, considérés longtemps comme de nature passive, relèvent cependant d'un mécanisme d'auto-accélération. Cette rétroaction positive, déclenchant un cercle vicieux (Fig. 4) est due à l'intervention du récepteur de l'élastine. Les peptides d'élastine libérés par action d'élastases sur les fibres élastiques vont réagir en tant qu'agonistes avec le récepteur, présent sur la plupart (sinon toutes) les cellules de l'organisme. Cette interaction va amplifier les phénomènes de dégradation par l'augmentation de la production d'endopeptidases de type élastase. S'ajoute à cette amplification de l'élastolyse la production de radicaux libres, superoxyde $O^{\cdot-}_2$ et $NO^{\cdot}$, qui peuvent se combiner pour former l'anion toxique, le peroxynitrite ($ONOO^-$). Nous avons pu montrer avec Gabriella Péterszegi que ce processus peut induire la mort cellulaire par nécrose et apoptose (37). On comprend ainsi le déclin progressif des fonctions « utiles » médiées par ce récepteur et la persistance d'effets nuisibles. La perte progressive avec l'âge de l'effet vasodilatateur des peptides d'élastine sur les anneaux d'aorte de rat pourrait bien relever de ce mécanisme (38). Ce processus d'auto-amplification met l'accent sur la nature épigénétique des mécanismes de déclin des fonctions élastiques (39). D'autres boucles rétroactives de même nature avec auto-amplification d'effets nuisibles ont pu être mis en évidence et en particulier ceux liés à l'augmentation de la synthèse de la fibronectine avec l'âge et l'effet nuisible de ses produits de dégradation (40, 41). Ce bref récit des propriétés physiopathologiques de l'élastine permet de relier les propriétés physicochimiques essentielles de cette protéine qui se sont montrées si utiles au cours de l'évolution phylogénétique, aux mécanismes impliqués dans le déclin des organismes. Ce déclin résulte apparemment dans la perte de ces fonctions vitales, à la suite d'une cascade d'altérations nuisibles.

Terminons cette brève réflexion sur un paradigme qui sera prédominant au cours du prochain siècle – le vieillissement vasculaire et son rôle capital dans la mort cardiaque des personnes âgées – est il à considérer comme le résultat d'un vieillissement « normal » ou plutôt le résultat d'un processus pathologique ? Ce débat - autant conceptuel qu'économique -pourrait être tranché par la mise au point de médicaments capables d'arrêter et même renverser le cercle vicieux représenté sur la figure 4.

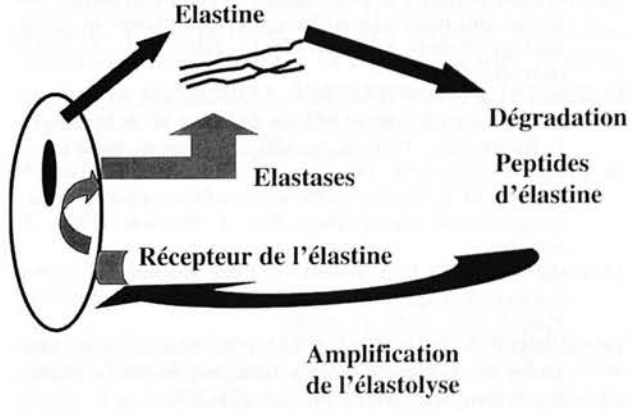


Fig. 5. – Boucle de rétroaction positive d'amplification de l'élastolyse. Les cellules (fibroblastes, cellules musculaires lisses) synthétisent l'élastine mais sécrètent aussi des élastases. L'attaque des fibres par les élastases libère des peptides d'élastine qui réagissent avec le récepteur de l'élastine sur la membrane cellulaire, entraînant l'augmentation de la synthèse d'élastases.

BIBLIOGRAPHIE

1. Frohlich F. & Schubnel H. J., Les âges de la terre, eds., Muséum National d'Histoire Naturelle, 1999.
2. Brown J.C. & Timpl R., The collagen superfamily, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, *107*, 484-490.
3. Franc S., Franc J.M. & Garrone R., Fine structure and cellular origin of collagenous matrices in primitive animals porifera, cnidaria and ctenophora, In: Frontiers of Matrix Biology, Robert A.M., Robert L. Eds., 1976, 3:143-156 (Karger, Basel).

4. Hunt S., Polysacceharide-protein complexes in invertebrates, 1970, Academic press, London.
5. Wight T.N. & Mecham R.P., Biology of proteoglycans, 1987, Academic Press, London.
6. Labat-Robert J., Robert L., Auger C., Lethias C. & Garrone R., A fibronectin-like protein in porifera ; its role in cell aggregation, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1981, *78*, 6261-6265
7. Sage E.H. & Gray W.R., Evolution of elastin structure, In: Elastin and elastic tissue, Sandberg L.B., Gray W.R., Franzblau C. Eds., 1977, 291-312, Plenum Press, New York.
8. Keeley F.W., Wright G.M., Youson J.H. & Robson P., Exploring the structure, functional and evolutionary relationships between elastin and noncollagenous structural proteins of lower vertebrates, In: Proceedings of the International Conference on Elastin and Elastic Tissue, Maratea, Italy, 1996, A.M. Tamburro ed., Tip. Mario Armento & C., Potenza, pp 131-137.
9. Robert L. & Hornebeck W., Elastin and elastases, *CRC Press*, 1989, I et II: (CRC Press mc. Boca Raton, Fla.).
10. Poullain N. & Robert L., Rôle des forces hydrophobes dans la structure de lélastine, In: « Biochimie et la physiologie du tissu conjonctif » Comte Ph. Ed., 1965, pp. 139-143.
11. Robert L. & Poullain N., Structure de lélastase. Rôle des forces hydrophobes, *Arch. Mal. Cœur.*, 1966, *59*, 121-127.
12. Robert L. & Poullain N., Etudes sur la structure de lélastine et le mode d'action de lélastase. I. Nouvelle méthode de préparation de dérivés solubles de lélastine, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1963, *45*, 1317-1326.
13. Kornfeld-Poullain N. & Robert L., Effet de différents solvants organiques sur la dégradation alcaline de l'élastine, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1968, *50*, 759-771.
14. Urry D.W., Sequential polypeptides of elastin: structural properties and molecular pathologies, In Frontiers of Matrix Biology, Robert A.M., Robert L., Eds., 1980, *8*, 78-103 (Karger, base]).
15. Robert L. & Robert A.M., Elastin, elastase and arteriosclerosis, In « Frontiers of Matrix Biologie », A.M. Robert, L. Robert Eds., 1980, *8*, pp. 130-173 (Karger, Basel).
16. Robert B., Szigeti M., Derouette J.C., Robert L., Bouissou H. & Fabre M.T., Studies on the nature of the « microfibrillar » component of elastic fibers, *Eur. J. Biochem.*, 1971, *21*, 507-516.
17. Kadar A., Robert B. & Robert L., Eude biochimique et électromicroscopique des microfibrilles du tissu conjonctif, *Pathol. Biol.*, 1973, *21*, 80-88.
18. Jacob M.P., Hornebeck W. & Robert L., Studies on the interaction of cholesterol woth soluble and insoluble elastins, *Int. J. Biol. Macromol.*, 1983, *5*, 275-278.
19. Claire M., Jacotot B. & Robert L., Characterization of lipids associated with macromolecules of the intercellular matrix of human aorta, *Conn. Tiss. Res.*, 1976, *4*, 61-71.
20. Moschetto Y., De Backer M., Pizieux O., Bouissou H., Pieraggi M. Th. & Julian M., Evolution de l'élastine d'aortes humaines au cours du vieillissement, *Paroi Artérielle*, 1974, *2*, 161-177.
21. Balo J. & Banga I., Elastase and elastase inhibitor, *Nature*, 1949, *164*, 491.
22. Robert B., Hornebeck W. & Robert L., Cinétique hétérogène de l'interaction élastine-élastase, *Biochimie*, 1974, *56*, 239-244.
23. Robert B., Derouette J.C. & Robert L., Mise en évidence d'une protéase à activité élastolytique dans les extraits d'aortes humaines et animales, *C.R. Acad. Sci.*, 1974, *278*, 3251-3254.
24. Robert B., Robert L. & Robert A.M., Elastine, élastase et artériosclérose, *Pathol. Biol.*, 1974, *22*, 661-669.
25. Hornebeck W., Derouette J.C., Roland J., Chatelet F., Bouissou H. & Robert L., Corrélation entre l'âge, l'artériosclérose et l'activité élastinolytique de la paroi aortique humaine, *C.R. Acad. Sci.*, 1976, *292*, 2003-2006.
26. Robert L., Jacob M.P., Frances C., Godeau G. & Hornebeck W., Interaction between elastin and elastases and its role in the aging of the arterial wall, skin and other connective tissues. A review, *Mechanisms of ageing and development*, 1984, *28*, 155-173.
27. Robert L., Robert A.M. & Jacotot B., Elastin-elastase-atherosclerosis revisited, *Atherosclerosis*, 1998, *140*, 281-295.
28. Labat-Robert J. & Robert L., Interaction between cells and extracellular matrix: signaling by integrins and the elastin-laminin receptor, In : Progress in molecular and subcellular biology, A. Macieira-Coelho (Ed.), 2000, *25*, 57-70, Springer-Verlag, Berlin.
29. Hornebeck W., Tixier J.M. & Robert L., Inducible adhesion of mesenchymal cells to elastic fibers: elastonectin, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1986, *83*, 5517-5520.
30. Fulop T. Jr., Jacob M.P., Varga Zs., Foris G., Leovey A. & Robert L., Effect of elastin peptides on human monocytes : Ca^{2+} mobilization, stimulation of respiratory burst and enzyme secretion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, *141*, 92-98.
31. Varga Z., Kovacs E.M., Paragh G., Jacob M.P., Robert L. & Fulop T., Effect of elastin peptides and N-Formyl-Methionyl-Leucyl phenylalanine on cytosolic free calcium in polymorphonuclear leukocytes of healthy middle-aged and elderly subjects, *Clin. Biochem.*, 1988, *21*, 127-130.
32. Faury G., Ristori M.T., Verdetti J., Jacob M.P. & Robert L., Effect of elastin peptides on vascular tone, *J. Vase. Res.*, 1995, *32*, 112-119.
33. Mecham R.P., Hinek A., Griffin G.L., Senior R.M. & Liotta L., The elastin receptor shows structural and functional similarities to the 67-kDa tumor cell laminin receptor, *J. Biol. Chem.*, 1989, *264*, 16652-16657.
34. Hinek A., Wrenn D.S., Mecham R.P. & Barondes S.H., The elastin receptor : a galactoside-binding protein, *Science*, 1988, *239*, 1539-1541.
35. L. Robert : Le vieillissement faits et théories, Dominos, Flammarion, 1995.
36. Robert : Le vieillissement, CNRS, Berlin, 1994.
37. Peterszegi G., Texier S. & Robert L., Cell death by overload of the elastin-laminin receptor on human activated lymphocytes: protection by lactose and melibiose, *Eur. J. Clin. Invest.*, 1999, *29*, 166-172.
38. Faury G., Chabaud A., Ristori M.T., Robert L. & Verdetti J., Effect of age on the vasodilatory action of elastin peptides. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1997, *95*, 31-42.
39. Robert L. & Labat-Robert J., Aging of connective tissues, from genetic to epigenetic mechanisms, *Biogerontology*, 2000, *1*, 123-131.
40. Labat-Robert J., Potazman J.P., Derouette J.C. & Robert L., Age-dependent increase of human plasma fibronectin, *Cell. Biol. Int.*, 1981, *5*, 969-973.
41. Labat-Robert J., Cell-matrix interactions, alterations with aging, involvement in angiogenesis, *Pathol. Biol.*, 1998, 46 n° 7, 527-533.
42. Jacotot B. & Robert L., Atheroma, atherosclerosis and aging, in : Degenerative diseases of conective tissue and aging, Robert L., Murata K., Nagai Y., Eds., 1985, 153-166, (Kodansha Ltd, Tokyo).
43. Robert B. & Robert L., Aortic elastase, its role in the degradation of arterial elastin, In : « *Protides of the biological-fluids* » Peeters H. Ed., 1975, 22 : pp. 413-418 (Pergamon Press, Oxford, New York).

Séance du 20 décembre 2000