

## Mécanismes d'action de l'aldostérone dans le rein

La partie du canal collecteur située dans le cortex rénal est le segment-cible principal de l'aldostérone. L'hormone induit la formation de diverses protéines responsables de l'effet biologique qui porte non seulement sur la pompe à sodium dans la membrane basolatérale, mais aussi sur le canal sodium de la membrane apicale des cellules tubulaires.

**Nicolette Farman**  
*Directeur de Recherche Inserm*  
**Bernard Rossier**  
*Professeur à l'Université de Lausanne*  
**Jean-Pierre Bonvalet**  
*Directeur de Recherche Inserm*

**L**e rein est le principal organe-cible de l'aldostérone, hormone stéroïde d'origine cortico-surrénalienne. Depuis une vingtaine d'années, le mode d'action cellulaire de l'aldostérone et ses effets rénaux sont connus dans leurs grandes lignes. L'aldostérone agit dans les parties terminales du néphron pour procéder aux ajustements de l'excrétion de sodium, très vraisemblablement de l'hydrogène et sans doute, de potassium : elle réduit l'excrétion du sodium (natriurèse) et augmente celle du potassium (kaliurèse) et de l'hydrogène (excrétion acide). La pathologie humaine offre des exemples caractéristiques des effets de l'aldostérone. Le défaut de sécrétion d'hormone surrénalienne (maladie d'Addison) entraîne une perte rénale de sodium considérable avec hypotension artérielle, hyperkaliémie et acidose métabolique. A l'inverse, il existe des tumeurs bénignes surrénaliennes sécrétant de l'aldostérone (« syndrome de Conn ») responsables d'hypertension artérielle avec bilan sodé positif de l'organisme, perte rénale de potassium et alcalose métabolique.

Comme les autres hormones stéroïdes, l'aldostérone entre dans les cellules par diffusion, se lie de façon non covalente à des protéines intracellulaires, les récepteurs cytoplasmiques; les complexes hormone-récepteurs migrent dans le noyau où ils modifient la transcription d'un ou plusieurs gènes. Il s'ensuit une synthèse d'ARN et de protéine(s) induite(s) responsables des

effets cellulaires de l'hormone. Ce schéma d'ensemble a été proposé par Edelman [1] au vu des cinétiques de liaison de l'hormone dans le cytoplasme et le noyau, de l'existence d'un délai d'action compatible avec le temps de synthèse de novo de protéine(s) effectrice(s), et de la suppression de l'effet par un inhibiteur de la transcription (actinomycine D).

Dès la description de ce schéma, il est apparu que la liaison de l'aldostérone dans la cellule ne se faisait pas à un seul type de récepteur, mais au moins à deux : les récepteurs de type I, peu nombreux et qui présentent une forte affinité pour l'aldostérone [constante de dissociation ( $K_d$ )  $\approx 10^{-10} - 10^{-9}$  M] et les récepteurs de type II, ayant une affinité moindre pour l'aldostérone ( $K_d \approx 10^{-8}$  M) mais présents en nombre au moins 10 fois supérieur aux récepteurs de type I. Un troisième type de récepteurs a également été décrit; ce pourrait être une liaison de l'aldostérone à la CBG (corticostérone binding globulin), protéine plasmatique susceptible de pénétrer dans le cytoplasme. Des expériences de spécificité (compétition croisée) ont fait attribuer aux récepteurs de type I l'appellation de « sites minéralocorticoïdes » (c'est-à-dire spécifiquement impliqués dans le transport transépithélial de sodium) et aux récepteurs de type II le nom de « sites glucocorticoïdes », plus spécifiques des stéroïdes du même nom (cortisol, dexaméthasone...). A l'heure actuelle, un tel schéma reste vrai dans ses grandes lignes. Toutefois, de grands progrès

### ADRESSES

N. Farman et J.-P. Bonvalet : Inserm U246, Dépt. Biologie-SBCe, CEN Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

B. Rossier : Institut de pharmacologie de l'Université de Lausanne, rue du Bugnon 21, 1011 Lausanne, Confédération Helvétique.

ont été réalisés principalement dans deux domaines : la localisation précise des sites de liaison de l'aldostérone le long du néphron, et le mécanisme d'action cellulaire de l'hormone.

### Localisation des sites d'action

Les expériences de physiologie sur rein entier ont permis depuis longtemps d'assigner à l'aldostérone une action majeure sur l'excrétion du sodium (et peut-être du potassium) dans les parties terminales du tubule rénal [2, 3]. Actuellement, on peut mesurer, sur telle ou telle partie du tubule, la liaison de l'hormone, la synthèse d'ARN et de certaines enzymes induites, et enfin les effets sur les transports transépithéliaux. La *figure 1* illustre la succession des épithéliums qui constituent le néphron.

**Récepteurs de l'aldostérone :** La liaison spécifique de l'aldostérone à ses récepteurs a pu être mesurée directement sur chacun de ces segments, surtout par technique autoradiographique (*figure 2*). La quantification de ces données a

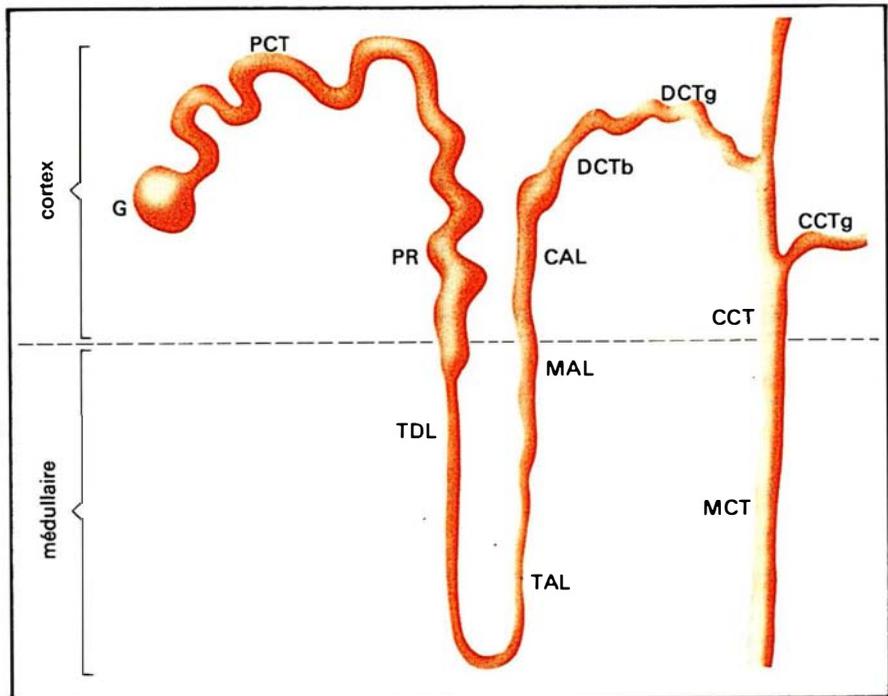


Figure 1. Les différentes parties du néphron :

*G* = glomérule; *PCT* = tubule contourné proximal; *PR* = pars recta du tubule proximal; *TDL* = segment grêle descendant de l'anse de Henle; *TAL* = segment grêle ascendant; *MAL* = segment large ascendant médullaire; *CAL* = segment large ascendant cortical de l'anse de Henle; *DCT* = tubule distal dans sa partie initiale (*DCT<sub>b</sub>*) ou granuleuse (*DCT<sub>g</sub>*); *CCT<sub>g</sub>* = tubule collecteur cortical granuleux; *MCT* = tubule collecteur médullaire.

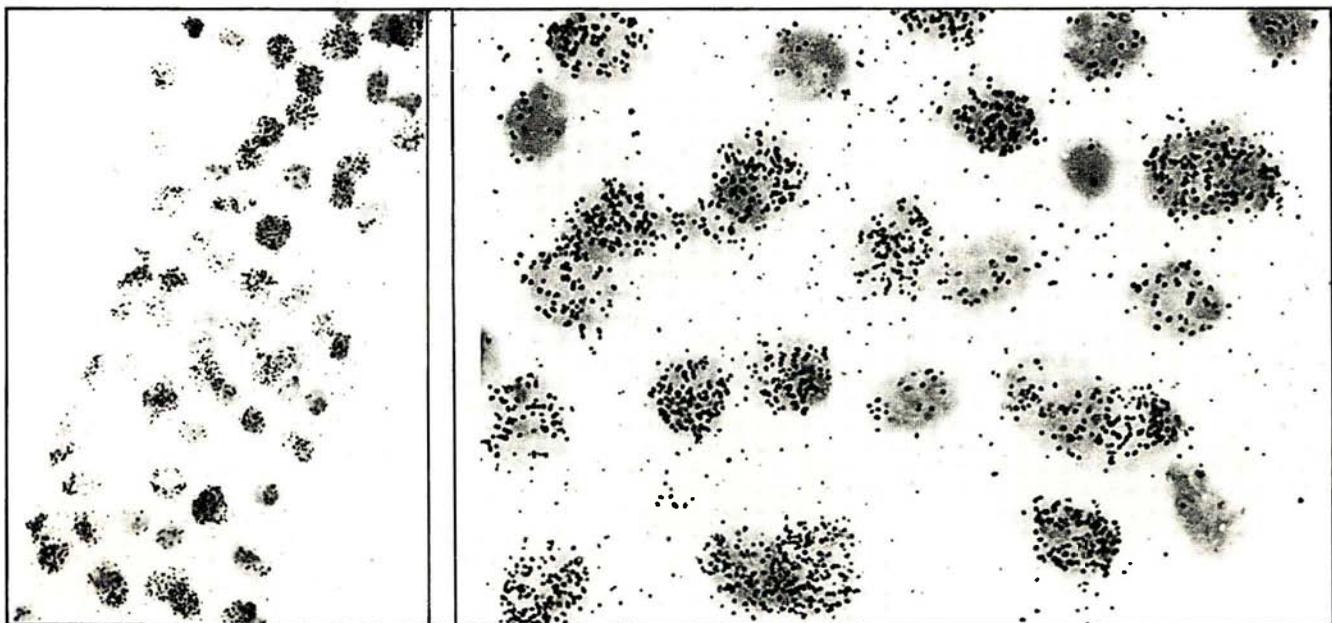


Figure 2. Exemple de marquage autoradiographique ( $^3\text{H}$ -aldostérone :  $1,5 \times 10^{-9} \text{ M}$ ) dans un segment cible, le tubule collecteur cortical. Sur la photographie de gauche, on voit les contours du tubule; les noyaux sont les ombres grisées; le cytoplasme n'est pas coloré. Les points noirs sont les grains d'argent témoins de la présence de complexes aldostérone-récepteurs. Le marquage est essentiellement nucléaire et hétérogène d'un noyau à l'autre. Cela est évident sur l'agrandissement (photo de droite).

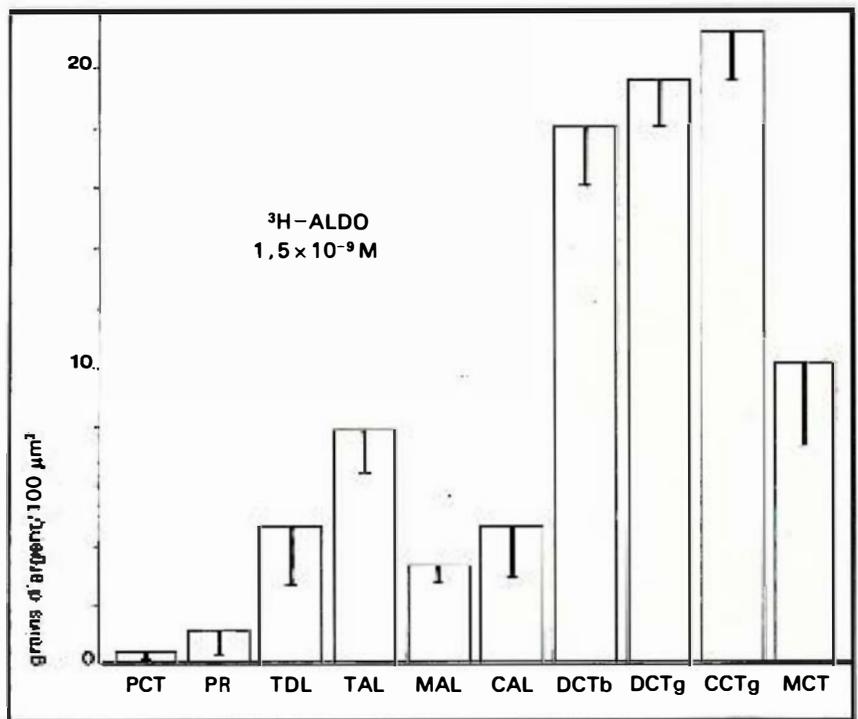


Figure 3. *Liaison nucléaire spécifique de l'aldostérone le long du néphron de lapin, déterminée par autoradiographie sur tubule isolé. Pour la signification des abréviations, voir la légende de la figure 1.*

permis d'établir un profil de liaison de l'aldostérone le long du néphron [4].

La figure 3 montre ce profil, pour une concentration « physiologique » d'hormone ( $1,5 \times 10^{-9}$  M). Schématiquement, on peut distinguer, dans le rein, trois catégories d'épithéliums vis-à-vis de la liaison de l'aldostérone. Les premiers sont totalement dépourvus de récepteurs nucléaires spécifiques, comme le tubule proximal. Il faut y ajouter les cellules glomérulaires, non montrées sur la figure. Les deuxièmes présentent une très forte liaison nucléaire spécifique. C'est le cas des structures terminales, dans la partie corticale du rein (tubule distal et collecteur cortical). Enfin, certains segments, essentiellement médullaires (anse de Henle, tubule collecteur médullaire) sont « intermédiaires » : liaison plus faible, spécificité clairement croisée avec les glucocorticoïdes.

**Synthèse d'ARN :** récemment, une induction de synthèse de novo d'ARN, estimée par l'incorporation d'uridine après traitement minéralocorticoïde, a été montrée dans le tubule collecteur, un segment-cible

pour l'aldostérone, en l'absence de variation significative dans les autres segments tubulaires non-cibles [5]. De plus, au sein de ce segment-cible, une modulation différentielle de la synthèse d'ARN d'un type cellulaire (cellules « claires ») à un autre (cellules « sombres ») a été mise en évidence. L'hétérogénéité cellulaire au sein d'un segment tubulaire bien défini, est actuellement très étudiée tant au plan morphologique qu'au plan fonctionnel, concernant notamment les réponses hormonales.

**Induction d'activités enzymatiques :** Certaines activités enzymatiques modifiées par l'état stéroïdien de l'animal, comme la citrate-synthase [6] et surtout l'ATPase [7], ont pu être mesurées. Ces modulations par l'aldostérone sont localisées dans le tubule collecteur cortical, donc en parfaite concordance avec les données de liaison spécifique de l'aldostérone dans le rein. Pour les autres segments du néphron terminal, comme le tubule distal ou collecteur médullaire, les résultats divergent et il est difficile de se prononcer. A l'origine de ces divergences interviennent des élé-

## RÉFÉRENCES

1. Edelman IS. Mechanism of action of steroid hormones. *J Steroid Biochem* 1975; 6: 147-59.
2. Bonvalet JP. Données actuelles sur les effets physiologiques de l'aldostérone dans le rein. *Néphrologie* 1985; 6: 99-104.
3. Fanestil DD, Park CS. Steroid hormones and the kidney. *Ann Rev Physiol* 1981; 43: 637-49.
4. Farman N, Vandewalle A, Bonvalet JP. Aldosterone binding in isolated tubules. II. An autoradiographic study of concentration dependency in the rabbit nephron. *Am J Physiol* 1982; 242: F 69-77.
5. Vandewalle A, Cluzeaud F, Chavance M, Bonvalet JP. Cellular heterogeneity of uridine incorporation in collecting tubule. Effect of DOCA. *Am J Physiol* 1985; 248: F 552-64.
6. Marver D, Schwartz MJ. Identification of mineralocorticoid targetsites in the isolated rabbit cortical nephron. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77: 3672-6.

ments méthodologiques : concentrations d'aldostérone, travaux *in vivo* ou *in vitro*, délai d'action, présence ou non de glucocorticoïdes; enfin, le caractère primaire (induction enzymatique directe) ou secondaire (adaptation à des modifications intracellulaires causées primitivement par l'hormone) des modulations observées, est toujours discuté.

**Transports transépithéliaux :** tous les auteurs s'accordent sur deux points : l'aldostérone réduit l'excrétion rénale de sodium; une réabsorption accrue de sodium, couplée ou non à une sécrétion de potassium, est présente, sous l'effet de l'hormone, dans le tubule collecteur cortical. Pour le tubule distal, des résultats divergents ont été obtenus; cependant, des données récentes, issues de microperfusions tubulaires *in vivo* à faibles doses, sont en faveur d'une action de l'aldostérone sur le transport de sodium et de potassium dans ce segment. Une action directe de l'aldostérone sur le transport de ces ions est exclue dans le tubule proximal, et peu probable dans l'anse de Henle et le tubule collecteur médullaire. Contrairement à l'unanimité réalisée sur l'existence d'un transport de sodium dépendant de l'aldostérone, les opinions concernant

un effet direct de l'aldostérone sur la sécrétion de potassium ont varié dès les premiers travaux et varient encore aujourd'hui [2]. Un troisième effet souvent évoqué serait une sécrétion d'hydrogène, après administration d'aldostérone, particulièrement dans le tubule collecteur. L'existence même et l'importance quantitative de cet effet sont encore discutées. Aucun effet de l'aldostérone sur d'autres transports électrolytiques ou hydriques ne peut formellement être établi à ce jour.

### Du récepteur à l'induction protéique

**Existe-t-il deux types de récepteurs pour l'aldostérone?** Contrairement aux récepteurs d'autres hormones stéroïdes, le récepteur de l'aldostérone n'a pas encore été isolé. Une des raisons probables de ce retard est sa très faible concentration intracellulaire : moins de 1/10 000 des protéines, dix à cent fois moins abondants que les récepteurs glucocorticoïdes rénaux. Cette absence de purification contraint à un abord indirect des problèmes. Ainsi, les appellations de « sites minéralo- » ou « gluco-corticoïdes », souvent données aux récepteurs de type I ou II respectivement, reposent essentiellement sur des études biochimiques

classiques sur homogénat de rein entier. Il est plus ardu d'en donner une définition « fonctionnelle », c'est-à-dire de relier directement l'occupation par l'aldostérone de tel ou tel type de récepteur rénal à une fonction physiologique précise.

L'utilisation d'épithéliums modèles prend ici toute sa valeur : dans la vessie de crapaud, un premier travail avait montré que seule l'occupation des récepteurs de type I était corrélée à l'augmentation du transport de sodium dépendant de l'aldostérone [8]. Des études récentes [9] suggèrent que l'occupation des deux types de récepteurs par l'aldostérone serait nécessaire à la réponse minéralocorticoïde. Cette réponse comporterait une phase précoce, avec chute de la résistance électrique transépithéliale, et une phase plus tardive qui implique une biosynthèse d'ATPase, les sites de type II n'intervenant que dans cette dernière phase.

**Répartition intracellulaire des complexes aldostérone-récepteurs :** selon le schéma classique [1], à l'état libre les récepteurs seraient essentiellement cytoplasmiques. Ce n'est qu'une fois le complexe hormone-récepteur cytoplasmique constitué, qu'il pourrait, après une étape « d'activation » encore mal définie

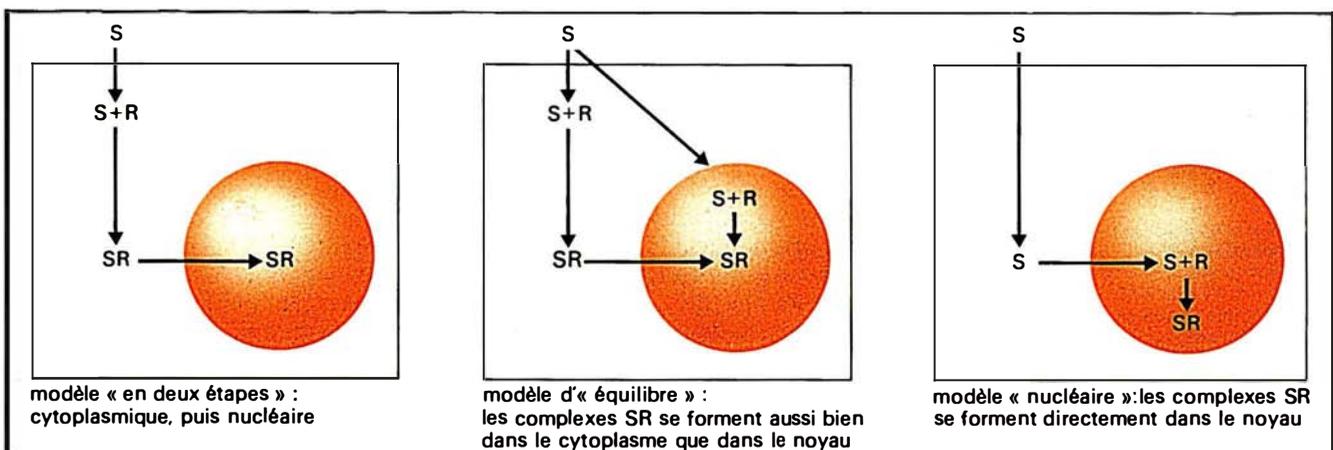


Figure 4. *Trois modèles décrivant la distribution intracellulaire des récepteurs (R) des hormones stéroïdes (S). Un rôle spécifique des récepteurs cytoplasmiques (en particulier pour les glucocorticoïdes) est possible.*

## RÉFÉRENCES

7. El Mernissi G, Doucet A. Short-term effect of aldosterone and dexamethasone on Na-K-ATPase along the rabbit nephron. *Pflugers Arch* 1983; 399: 147-51.
  8. Farman N, Kusch M, Edelman IS. Aldosterone receptor occupancy and sodium transport in the urinary bladder of *Bufo marinus*. *Am J Physiol* 1978; 235: C90-6.
  9. Geering K, Claire M, Gaeggeler HP, Rossier BC. Receptor occupancy vs induction of Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase and Na<sup>+</sup> transport by aldosterone. *Am J Physiol* 1985; 248: C 102-8.
  10. Farman N, Manillier C, Bonvalet JP. Autoradiographic study of nuclear localization of aldosterone binding sites in intact renal cells: lack of temperature dependency. *J Steroid Biochem* 1984; 20: 585-93.
  11. Martin PM, Sheridan PJ. Towards a new model for the mechanism of action of steroids. *J Steroid Biochem* 1982; 16: 215-29.
- dans sa nature, migrer dans le noyau pour interagir avec la chromatine. Cette « translocation nucléaire » serait thermodépendante et ne se produirait pas à froid (4°C), les complexes hormone-récepteur s'accumulant alors dans le cytoplasme. Des interrogations sur l'exactitude de ce schéma ont été soulevées par des résultats plus récents d'autoradiographie d'aldostérone tritiée sur des cellules-cibles intactes montrant, même à froid, une liaison nucléaire spécifique quasi-exclusive à des temps d'application de l'hormone, pour lesquels les expériences biochimiques indiquent une prédominance cytoplasmique de la liaison [10]. Des résultats analogues ont été obtenus avec d'autres hormones stéroïdes dans d'autres tissus [11]. Dans ce cas, les auteurs attribuent la dissociation entre résultats biochimiques et autoradiographiques à une redistribution des complexes hormone-récepteur du compartiment nucléaire vers le compartiment cytoplasmique, survenant au cours des étapes de fractionnement cellulaire préalables aux mesures biochimiques. Enfin, l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les récepteurs d'autres hormones stéroïdes a permis de montrer, soit une localisation exclusivement nucléaire des récepteurs (œstrogènes) [12], soit une localisation nucléaire et cytoplasmique (glucocorticoïdes) [13]. La question de la répartition intracellulaire des récepteurs des hormones stéroïdes reste donc posée [14] (*figure 4, p. précédente*).
- Les protéines effectrices de l'aldostérone* : l'aldostérone, à l'image d'autres stéroïdes, contrôle l'expression de plusieurs gènes, soit en les activant, soit en les réprimant à un niveau transcriptionnel ou post-transcriptionnel. Le nombre de gènes spécifiquement contrôlés par l'aldostérone n'est pas connu avec précision. Une estimation raisonnable donne environ 1 % des gènes activables ou réprimables sous le contrôle minéralocorticoïde. Cela pourrait représenter 100 à 600 protéines différentes [15]. Ces protéines forment ce que l'on appelle un *domaine hormonal*. La technique utilisée pour déterminer le domaine hormonal des hormones stéroïdes est

celle du marquage des protéines cellulaires totales par un précurseur radioactif (en général la méthionine <sup>35</sup>S) et de l'analyse des produits marqués sur un gel à deux dimensions permettant de résoudre 1 000 à 3 000 protéines différentes en une seule fois. Sur la portion de gel montrée sur la *figure 5*, on peut reconnaître trois protéines induites (cerclées) et deux protéines réprimées (fléchées) par l'aldostérone. Malgré les difficultés dues au grand nombre de protéines impliquées, dont les fonctions cellulaires précises sont inconnues, il est raisonnable de travailler sur un modèle plausible illustré dans la *figure 6*. On pourrait classer ainsi les protéines en deux catégories : les premières seraient impliquées dans la voie constitutive du transport de sodium et pourraient jouer un rôle au niveau de trois sites-clés de la cellule, la *membrane apicale*, où se trouve le canal au sodium, sensible à l'amiloride; la *membrane basale*, siège de la pompe à sodium sensible à l'ouabaine, et l'*appareil jonctionnel* qui contrôle la fuite de sodium vers l'espace urinaire. Les secondes protéines interviendraient au niveau d'une voie régulatrice impliquant des réactions biochimiques telles que phosphorylation, déphosphorylation, acylation, transméthylation, qui peuvent moduler la voie constitutive en modifiant l'insertion ou l'expression du canal au sodium dans la membrane apicale, l'insertion ou l'expression de la pompe à sodium dans la membrane basolatérale, ou encore la production d'ATP qui peut constituer, à son tour, un facteur limitant pour le fonctionnement de la pompe ou du canal au sodium.

*La membrane apicale* : des approches méthodologiques fort différentes ont permis de montrer clairement que l'aldostérone modifie la perméabilité au sodium de la membrane apicale. C'est certainement un effet majeur durant la réponse précoce à l'aldostérone. De nombreux arguments indiquent que, plutôt que la synthèse de nouveaux canaux, ce serait l'expression de ces canaux à la surface de la cellule qui serait impliquée.

*La membrane basolatérale* : il est certain que l'aldostérone restaure

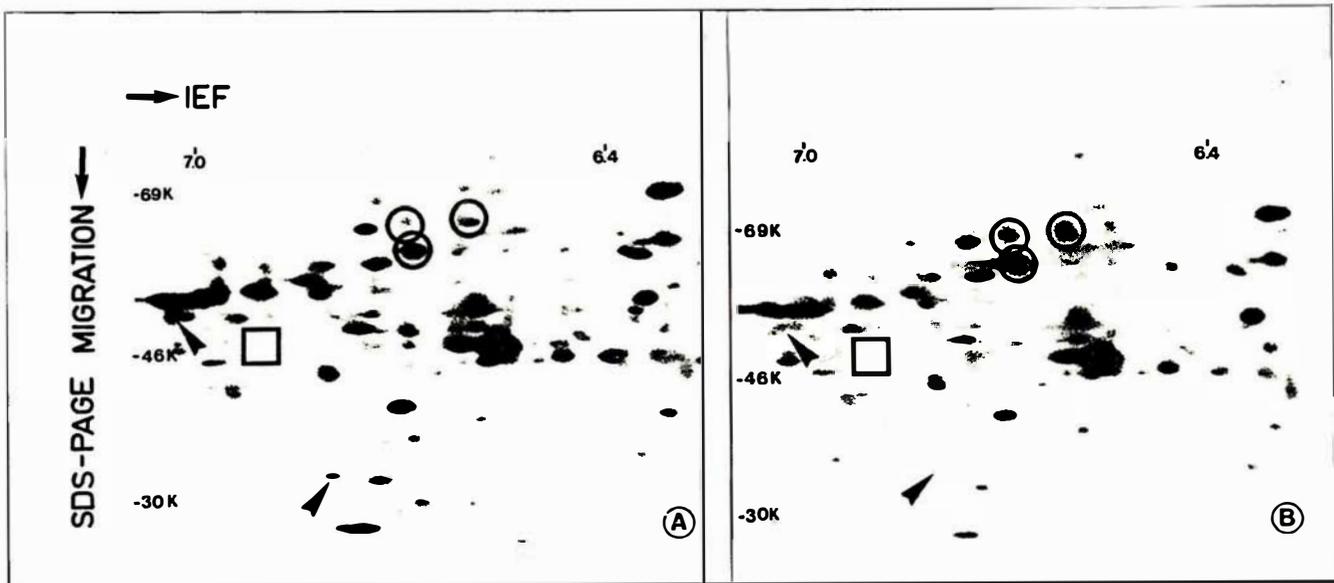


Figure 5. **Analyse des protéines synthétisées dans une cellule cible de l'aldostérone** (cellule épithéliale de la vessie urinaire du crapaud *Bufo marinus*). Les protéines des cellules stimulées pendant 18 h par l'aldostérone (B) sont comparées à celles d'une cellule non stimulée (A). Les protéines ont été séparées selon leur point isoélectrique (IEF, 1<sup>re</sup> dimension), puis selon leur poids moléculaire (SDS-PAGE, 2<sup>e</sup> dimension). Les protéines marquées à la méthionine radioactive (<sup>35</sup>S) sont révélées par autoradiographie. Une augmentation de l'intensité d'une tache correspond à une induction, une diminution à une répression. Trois protéines (cerclees) sont induites par l'aldostérone (PIA), alors que deux autres (flèche triangulaire) sont réprimées (PRA). La majorité des protéines n'est pas modifiée par le traitement à l'aldostérone.

rapidement et spécifiquement à son niveau normal l'activité enzymatique de la Na-K-ATPase dans le tubule collecteur cortical des mammifères surrénalectomisés. Chez l'amphibien, on a pu mettre en évidence une augmentation de synthèse de l'enzyme (2 à 3 fois) à des concentrations physiologiques d'aldostérone [16], mais on ne sait pas encore quelle est l'importance réelle de cette induction sur l'effet physiologique de l'aldostérone, c'est-à-dire sur la réabsorption de sodium. Il en va de même pour l'augmentation de l'activité enzymatique observée chez le mammifère. Il est cependant vraisemblable que l'aldostérone augmente finalement la quantité d'enzyme active au niveau de la membrane basolatérale de la cellule épithéliale par un double mécanisme : augmentation de la vitesse de la synthèse et de l'accumulation de l'enzyme d'une part, activation de pompes inactives d'autre part, l'ensemble concourant à augmenter la capacité de cette

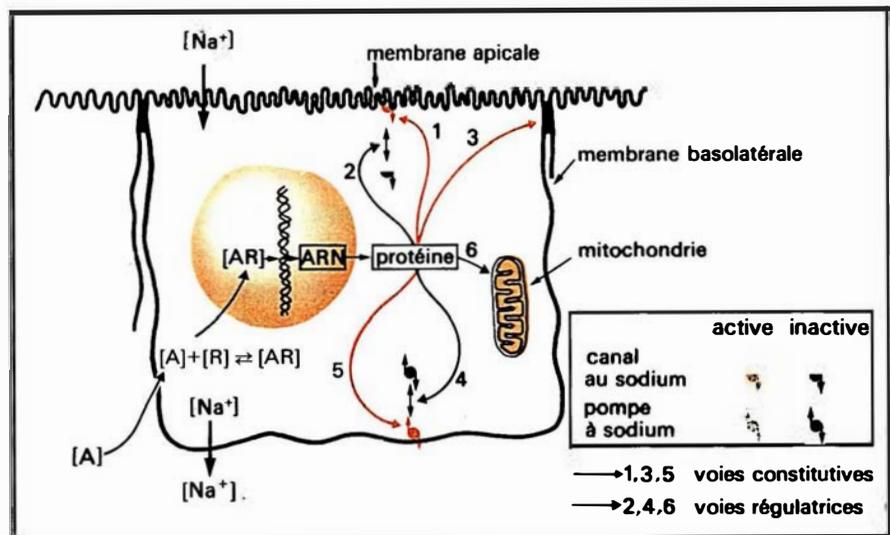


Figure 6. **Mécanisme d'action de l'aldostérone : un modèle.** Une cellule épithéliale est représentée schématiquement avec ses deux domaines membranaires : la membrane apicale séparée de la membrane basolatérale par l'appareil jonctionnel. L'aldostérone (A) passe à travers la membrane basolatérale et se lie à un récepteur (R) pour former un complexe (AR) qui se lie à des sites spécifiques du génome. Cette interaction conduit à l'accumulation d'ARN messagers qui sont transportés dans le cytoplasme et traduits en protéines (PIA : protéines induites par l'aldostérone) ou à la répression d'autres protéines (PRA : protéines réprimées par l'aldostérone) (voir texte pour explication).

membrane à pomper le sodium hors de la cellule.

*L'appareil jonctionnel* : cette question a encore été très peu étudiée, mais il est possible que l'aldostérone augmente la résistance électrique des jonctions serrées («tight junctions») et, par conséquent, prévienne la fuite du sodium vers l'espace urinaire.

*La synthèse de protéines mitochondriales* : il a été suggéré que l'aldostérone induisait la citrate synthase, une enzyme-clé du métabolisme mitochondrial, conduisant ainsi à une augmentation modérée de la production d'ATP, ce qui pourrait constituer un facteur limitant pour l'activité de l'ATPase ou encore un modulateur de la perméabilité apicale au sodium. Toutefois, des études récentes montrent qu'il ne s'agit peut-être que d'un effet permissif puisque, dans certaines situations expérimentales, on peut observer une réponse minéralocorticoïde parfaitement normale sans induction de citrate synthase.

Au total, il apparaît que l'aldostérone induit une réponse très complexe [17]. Il est probable que les protéines cibles de l'action de l'hormone soient le canal au sodium sensible à l'amiloride dans la membrane apicale, la pompe à sodium sensible à l'ouabaine dans la membrane basolatérale, et peut-être les protéines de l'appareil jonctionnel.

## RÉFÉRENCES

12. King W, Greene GL. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745-7.
13. Antakly T, Eisen HJ. Immunocytochemical localization of glucocorticoid receptor in target cells. *Endocrinology* 1984; 115: 1984-9.
14. Schrader WT. New model for steroid hormone receptors? *Nature* 1984; 308: 17-8.
15. Rossier BC, Paccolat MP, Verrey F, Kraehenbühl JP, Geering K. Mechanism of action of aldosterone: a pleiotropic response. In: Dumont JE, Hamprecht B, Nunez J, eds. *Hormones and Cell Regulation*. Amsterdam: Elsevier Science Publications 1985; 9: 209-25.
16. Geering K, Girardet M, Bron C, Kraehenbühl JP, Rossier BC. Hormonal regulation of (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase biosynthesis in the toad bladder. *J Biol Chem* 1982; 257: 10338-43.
17. Rossier BC, Geering K, Kraehenbühl JP. Mechanism of action of aldosterone: role of Na-K-ATPase. In: Robinson RR, ed. *Nephrology (I)*. New York: Springer-Verlag, 1984: 388-96.

## Conclusion

Si les mécanismes physiologiques de l'action de l'aldostérone ne sont pas encore entièrement élucidés, il n'est pas surprenant de constater notre grande ignorance en ce qui concerne le mécanisme moléculaire. La caractérisation récente de la pompe à sodium en terme moléculaire, qui devrait être suivie prochainement de celle du canal au sodium sensible à l'amiloride, va certainement permettre de faire progresser nos connaissances dans le domaine des mécanismes d'action. A l'aide de ces outils, la localisation précise de l'action de l'aldostérone le long du néphron pourra être affinée. C'est à ce prix qu'on pourra se faire finalement une idée précise du fonctionnement intégré du rein, et, partant, de sa régulation.

## Summary

Aldosterone acts mainly in the terminal parts of the nephron. Its specific binding to intracellular receptors has been localized in the distal and collecting tubule and, to a lesser extent, in the loop of Henle. Its action consists essentially in promoting sodium reabsorption. Potassium and hydrogen ion excretion may be also under aldosterone control. The collecting tubule is considered as the principal target segment for the hormone. The cellular mechanism of action of aldosterone consists in binding to at least two classes of receptors, which interact with chromatin, to modulate RNA and protein synthesis (induction or repression). Among a wide range of modulated proteins, the sodium pump ATPase has been shown to be specifically induced by aldosterone. The hormone also acts on the sodium channel at the apical membrane, and may influence proteins of the tight junctions and mitochondrial enzymes.

## TIRÉS A PART

N. Farman : Inserm U 246, Dépt. Biologie-SBCe, CEN Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex.