

RESULTATS I DISCUSSIÓ

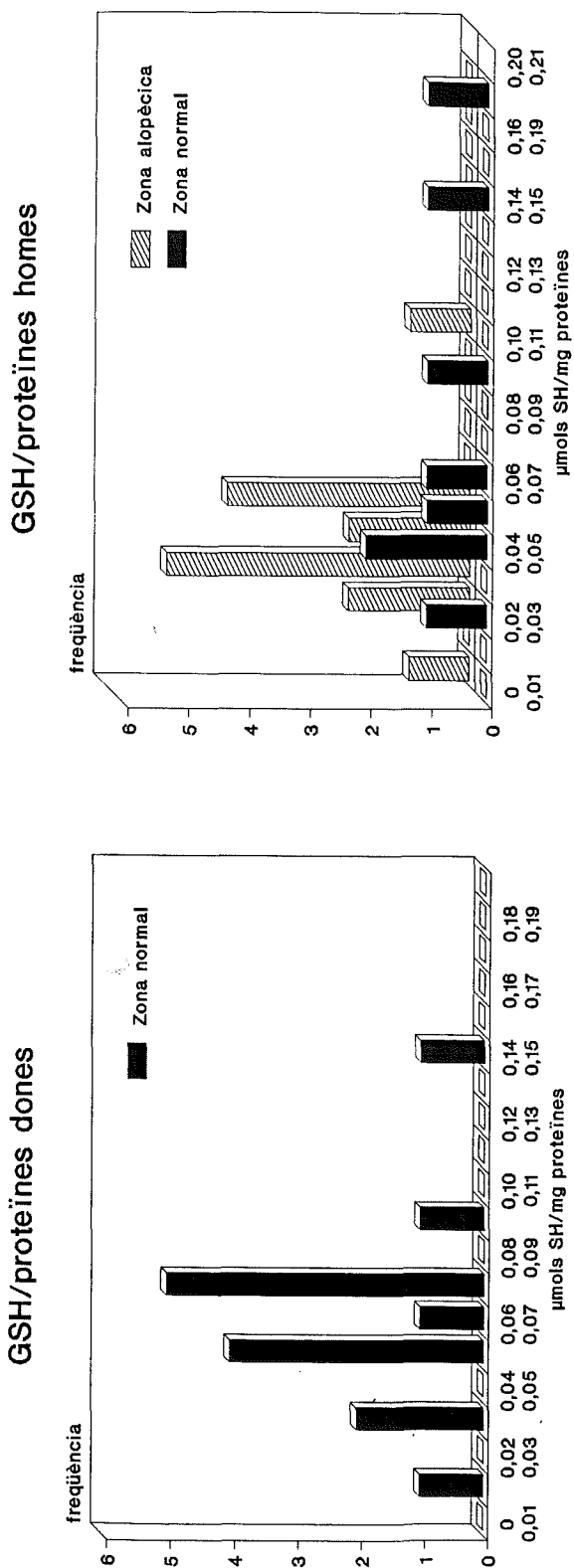


Fig. 27. Histograma de distribució de freqüències del contingut de GSH/mg proteïnes de la glàndula sebàcia.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

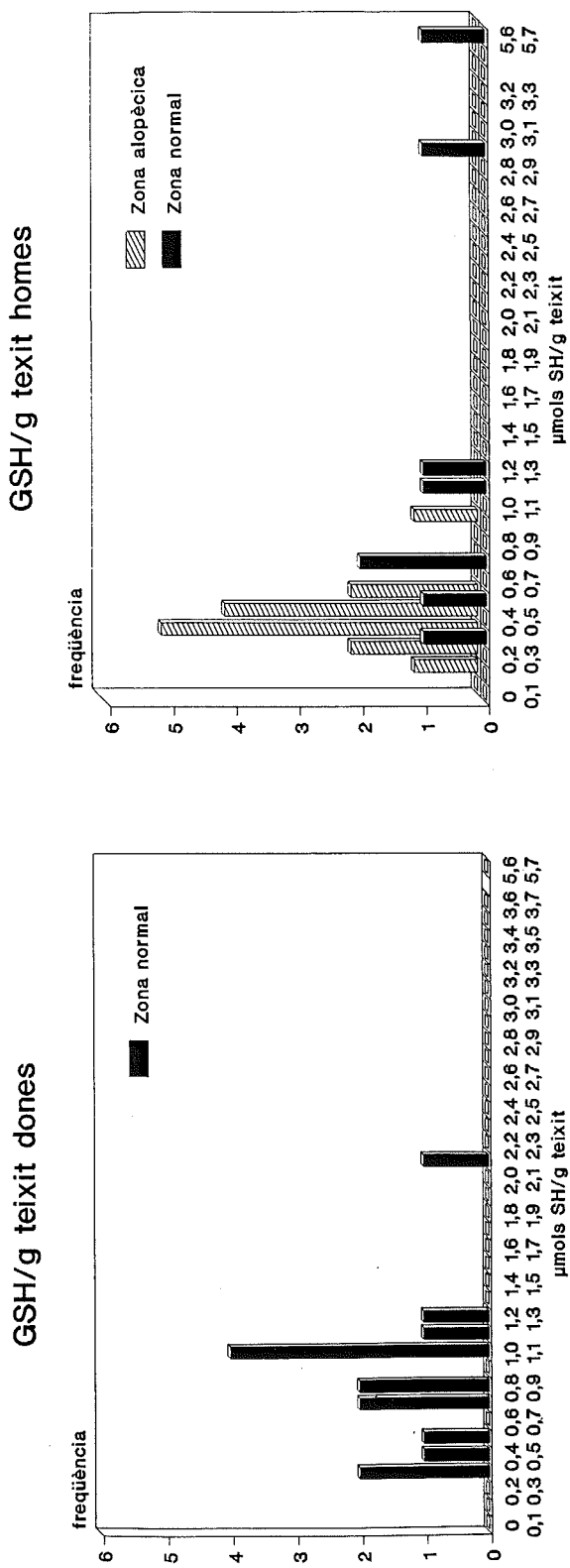


Fig.28. Histograma de distribució de freqüències del contingut de GSH/g teixit de la glàndula sebàcia.

7.- Discussió dels resultats del sistema GST/GSH de la glàndula sebàcia

Els valors obtinguts per a l'activitat GST utilitzant com a substrat CDNB no es poden comparar amb altres dades preexistents, ja que no hem localitzat cap treball on es determini l'activitat GST a glàndula sebàcia calculant els valors de K_m i V_{max} . Tant sols hem trobat un treball on fan l'estudi de l'activitat GST en pell sencera (159) provant diferents substrats, entre ells el CDNB, però els autors analitzen l'activitat de la GST utilitzant una sola concentració del substrat (1 mM) i no pas la V_{max} . El valor obtingut és molt més baix que el que obtenim nosaltres, segurament a causa de què treballen en pell de zona abdominal i pit, zones totes dues amb escassa presència de glàndules sebàcies, a diferència de les zones amb què hem treballat nosaltres.

Els resultats de K_m que s'han obtingut ens mostren un augment significatiu d'aquest paràmetre en la zona calba respecte a la zona normal (t d'Student, $p=0,011$), que podria indicar o bé l'augment d'un isoenzim que posseeixi un valor de K_m superior als dels isoenzims presents en la zona normal, o bé una inhibició competitiva per un bloqueig de la zona activa de l'enzim.

En primer lloc, l'augment d'un isoenzim queda pràcticament descartat amb els resultats obtinguts en el cromatoenfoc de les diferents zones, on les diferències en el percentatge es mantenen en el mateix rang, és a dir, el percentatge majoritari és el grup de les GST àcides, seguit pel grup de GST bàsiques i per finalitzar les neutres i la forma 5,5.

Per tant es podria pensar que es tracta d'una inhibició competitiva. Aquesta inhibició podria ser resultat de la presència de RLL que oxidarien el grup SH de la GST i per tant bloquejarien el lloc d'acció, o bé d'una inhibició dels propis metabòlits dels esteroides; donat que respecte als homes els valors trobats en dones en zona no alopèica mostren un augment no significatiu, podríem

RESULTATS I DISCUSSIÓ

suposar que es tractaria més d'una inhibició competitiva secundària al factor hormonal i que el lloc d'acció podria estar bloquejat per un substrat que competiria amb el CDNB, com podria ser un metabòlit dels esteroides. S'ha de tenir en compte, però, que les dones estudiades pertanyen a grups de dones menopàusiques en la seva gran majoria; per tant, existeix la probabilitat que els metabòlits dels andrògens -esteroides que presenten en aquest moment de la vida de la dona un "augment relatiu" si considerem que els estrògens han disminuït, puguin ser els responsables de l'augment de la Km pel substrat, necessitant per tant més concentració d'aquest per poder arribar a la velocitat màxima.

En els estudis realitzats amb diferents esteroides s'observa que aquests donen lloc a una inhibició de l'activitat GST.

Respecte a l'alteració de la Vmax en la patologia de la glàndula sebàcia (mostres alopeciques), es detecta un augment d'aquest paràmetre (t d'Student amb $p=1,5 \times 10^{-8}$ en el cas de Vmax/proteïnes; t d'Student amb $p=7,43 \times 10^{-6}$ en el cas Vmax/g teixit) compatible amb una inducció enzimàtica. Per tant, la presència d'alta quantitat de metabòlits d'andrògens podria produir una inducció enzimàtica de la GST de la glàndula sebàcia.

Ara bé, existeix també un augment de la Vmax en glàndula sebàcia de dones respecte a la d'homes no alopecics (t d'Student amb $p=1,5 \times 10^{-7}$ en el cas de Vmax/proteïnes; t d'Student amb $p=2,023 \times 10^{-6}$ en el cas Vmax/g teixit) indicant-nos possiblement que existeix una diferència entre sexes i que si haguéssim tingut oportunitat d'estudiar dones en edat fèrtil podríem haver trobat els mateixos valors que en el cas dels homes.

És ben conegut que un excés de radicals lliures acaba produint una inducció de les GST (126). El fet que en els nostres resultats la GST estigui augmentada podria respondre a un increment de l'estrès oxidatiu, secundari al metabolisme

RESULTATS I DISCUSSIÓ

dels andrògens que dona lloc a un excés de radicals lliures, entre ells el malondialdehid. En altres patologies on el factor etiològic sembla ser la inducció de la lipoperoxidació pels radicals lliures, com és el cas de l'aterosclerosi, s'ha observat augment de l'activitat GST tan sols en l'aorta ascendent, com a fenomen compensatori davant la presència de nivells baixos de lipoproteïnes d'alta densitat (HDL) (126).

Però cal tenir en compte també que, com hem vist, la GST majoritària en glàndula sebàcia identificada per cromatoenfoc és la GST pi. Aquesta GST és la més làbil de les tres formes enzimàtics -alfa, mu i pi-, i amb facilitat és inactivada per oxidació dels grups -SH de la cisteïna situats al lloc d'acció de l'enzim. Aquest estat oxidat/reduït de la GST és normal fisiològicament i depèn de l'equilibri glutatió oxidat/glutatió reduït (GSSG/GSH). La presència de GSH garanteix l'estabilitat de l'enzim, segurament perquè protegeix davant de la toxicitat dels compostos electrofílics, que en absència de GSH formen unions covalents amb l'enzim (26, 137, 170, 157, 193, 97, 161). Si existeix un ambient oxidant, com sembla que passa a la glàndula sebàcia, es pot pensar que, encara que trobem induïda la GST *in vitro*, pot estar inactivada *in vivo*, i més tenint en compte que existeix una disminució significativa del glutatió reduït en la zona alopècica com hem vist a l'apartat 6 de la discussió (t d'Student, $p=9,96 \times 10^{-3}$) i que va acompanyat per un augment de malondialdehid en la zona alopècica, com veurem posteriorment, que comporta a la vegada una inhibició de l'enzim 6GPDH, regenerador del glutatió oxidat.

Respecte als valors obtinguts en la purificació de l'enzim, sembla ser que existeix la presència de les tres formes enzimàtiques (bàsica, neutra i àcida). Aquest fet és important, ja que s'ha identificat que cada una d'elles és bàsicament responsable de la detoxificació d'un tipus de compost tòxic; així, la GST alfa mostra més afinitat pels hidroperòxids orgànics, la GST mu pels epòxids i la GST pi pels carcinògens i lipoperòxids (26, 92, 39, 93, 100).

RESULTATS I DISCUSSIÓ

El fet que la glàndula sebàcia mostri presència d'isoenzim bàsic i no mostri activitat isomerasa podria respondre a què el percentatge d'aquest isoenzim respecte al total d'activitat eluïda del cromatoenfoc és baix, i que seria necessari, com ja s'ha dit, utilitzar columnes d'afinitat per tal de poder concentrar al màxim l'enzim i veure si hi ha activitat isomerasa en la glàndula sebàcia; i veure -si aquesta existeix- si la zona alopècica mostra una activitat diferent, donat que el cromatoenfoc presenta major proporció de grups bàsics.

En glàndula sebàcia, com en altres teixits, hi ha individus que són fenotip nul per a la GST mu; per això, hi ha mostres que en el resultat del cromatoenfoc no presenten el grup de pics neutres.

La influència que demostren tenir els esteroides sobre l'activitat GST ens indica que aquest enzim podria jugar un paper protector en teixits involucrats en el metabolisme d'esteroides. S'han realitzat estudis en teixits de rata en diferents etapes de la vida i s'ha observat que durant la pubertat hi ha un augment de la GST correlacionat amb l'augment dels esteroides (61). No s'ha d'oblidar, a més, el paper de transport de les GST davant diferents substrats endògens. Listowsky i col. (108) suggereixen la possibilitat del transport intracel·lular de la GST davant els esteroides; normalment, el lligand -com pot ser l'esteroide- s'uneix a un receptor, el qual és transportat fins al nucli originant una resposta que comporta una inducció dels isoenzims de la fase I (citocrom P-450) o de la fase II, com pot ser la GST. Alhora, si el lligand excedeix la capacitat del receptor, s'uneix a la GST com a transportador. Quan l'esteroide s'uneix a la GST, existeix inhibició de l'activitat (83).

8.- Radicals lliures

8.1.- Malondialdehid

Malondialdehid/g teixit

	Homes		Dones
	n=6		n=22
Zona Normal	0,613 ± 0,08	NS	0,468 ± 0,27
	NS		
	n=29		
Zona Alopècica	0,809 ± 0,54	—————	S+

TAULA 24.- Contingut de malondialdehid a la glàndula sebàcia en mmols/g teixit (mitjana ± desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test U de Mann-Whitney. + p < 0,005.

Aquesta variable presenta una distribució normal en el grup de les dones i homes de la zona normal, mentre que és no normal en el grup dels homes calbs.

La figura 29 presenta l'histograma de freqüències del contingut de malondialdehid en zona no calba de dona i d'home i en zona alopècica d'home.

Comparant els diferents grups, tan sols s'observa diferències estadísticament significatives entre el grup de dones i la zona alopècica. En aquest cas hi ha un augment del contingut de malondialdehid en les zones alopèciques respecte a

RESULTATS I DISCUSSIÓ

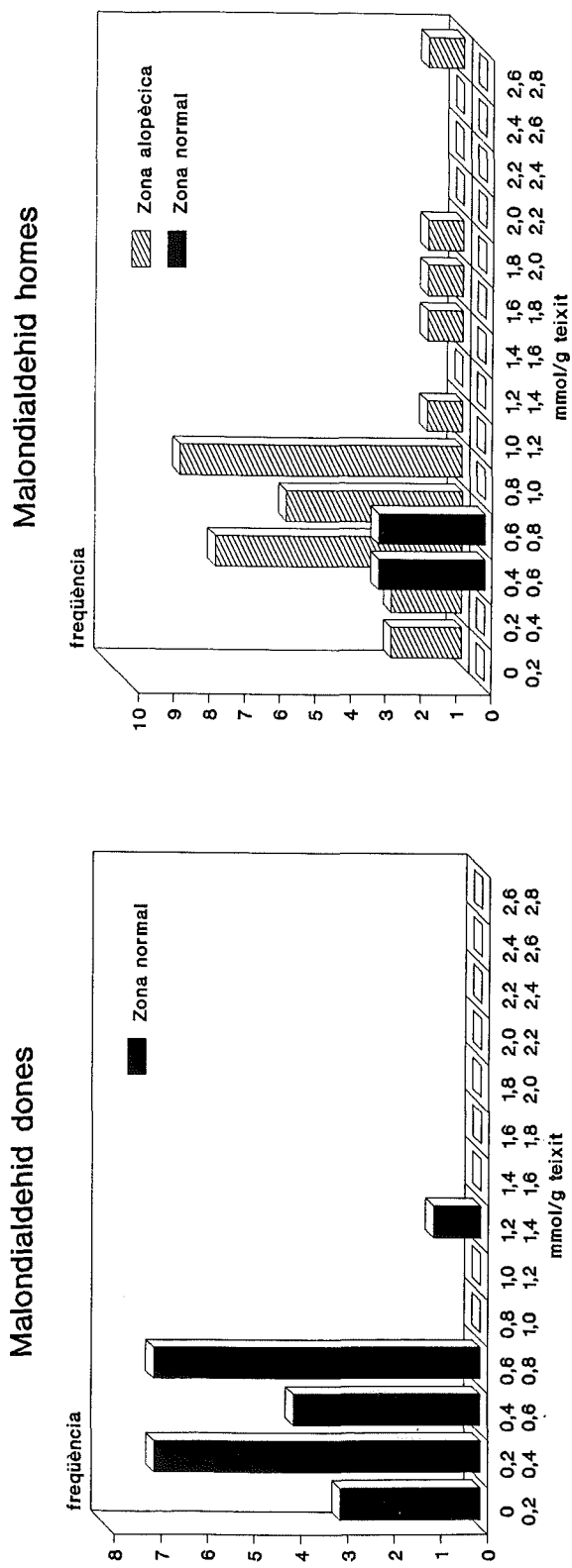


Fig.29. Histograma de distribució freqüències del contingut de malondialdehid.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

les dones (U de Mann-Whitney, $p = 1,50 \times 10^{-3}$). Respecte als homes, el contingut de malondialdehid augmenta però no és significatiu estadísticament, probablement a causa del baix nombre de casos del grup de zona normal que s'ha pogut obtenir per analitzar.

8.2.- Hidroperòxids

Hidroperòxid/g teixit

	Homes	Dones
Zona Normal		n=22 2,068 ± 2,47
Zona Alopèica	n=29 1,41 ± 1,15	NS

TAULA 25.- Contingut d'hidroperòxids a la glàndula sebàcia en mmols/g teixit (mitjana ± desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test U de Mann-Whitney.

El contingut d'hidroperòxids presenta una distribució normal en les mostres de zona alopèica i no normal en les dones.

L'histograma de la distribució de freqüències es pot veure a la figura 30.

No hem trobat diferències entre els dos grups de mostres estudiades; per altra banda, no s'ha pogut estudiar el contingut d'hidroperòxids en la zona normal d'homes, per manca de mostres.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

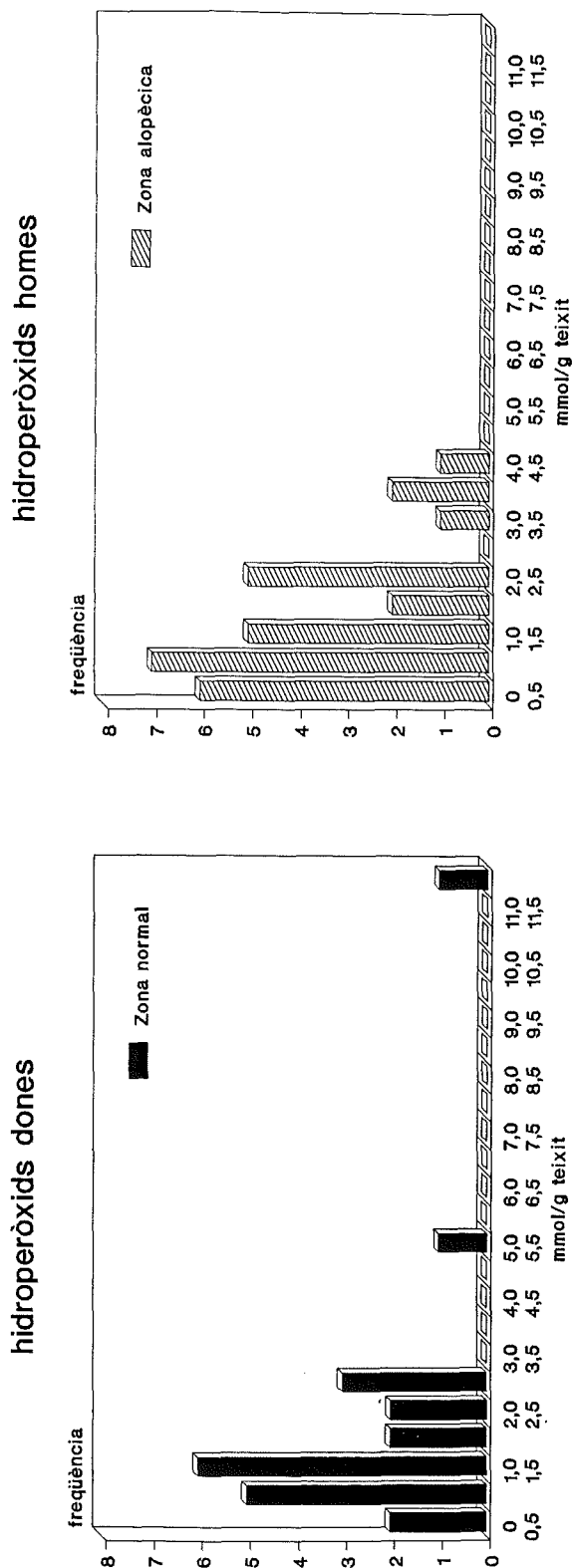


Fig.30. Histograma de distribució de freqüències del contingut d'hidroperòxids.

8.3.- Diens

Diens/g teixit

	Homes		Dones
Zona Normal	n=6 17,52 ± 9,6	NS	n=22 24,97 ± 27,1
Zona Alopècica	n=29 39,93 ± 40,6	—————	NS

TAULA 26.- Contingut de diens a la glàndula sebàcia en mmols/g teixit (mitjana ± desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test U de Mann-Whitney.

El grup de mostres de glàndula sebàcia de la zona normal d'homes és l'únic que presenta distribució normal pel contingut de diens a la seva membrana.

L'histograma de la distribució de freqüències es pot veure a la figura 31.

No trobem diferències estadísticament significatives en la comparació dels diferents grups, si bé hi ha un augment no significatiu del contingut de diens en les mostres de zona alopècica respecte a les zones normals tant d'home com de dona.

Així, doncs, en els tres casos de radicals lliures estudiats s'observa un augment significatiu en el contingut de malondialdehid en zona alopècica, indicant-nos

RESULTATS I DISCUSSIÓ

per tant un possible desencadenament de la lipoperoxidació.

Aquests lipoperòxids són importants, ja que produeixen diferents inhibicions enzimàtiques dins la cèl.lula. Per altra banda, Meffert i col. (122) creuen que hi ha una correlació directa entre la formació de malondialdehid, el desenvolupament d'enllaços covalents (productes de base de Schiff) i el dany d'estructures biològiques. Així, el malondialdehid incubat amb l'enzim glucosa 6-fosfat deshidrogenasa dóna lloc a la formació d'enllaços covalents i fa que disminueixi l'activitat enzimàtica d'aquest enzim, que és una peça clau en la via de les pentoses com a donador de NADPH per tal de poder reduir el GSH que s'ha oxidat en els diferents processos en què intervé.

Així, doncs, com ja s'ha comentat, aquest augment de malondialdehid podria representar una impossibilitat de reducció de la forma oxidada del GSH i per tant una disminució d'aquest en la zona calba d'homes.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

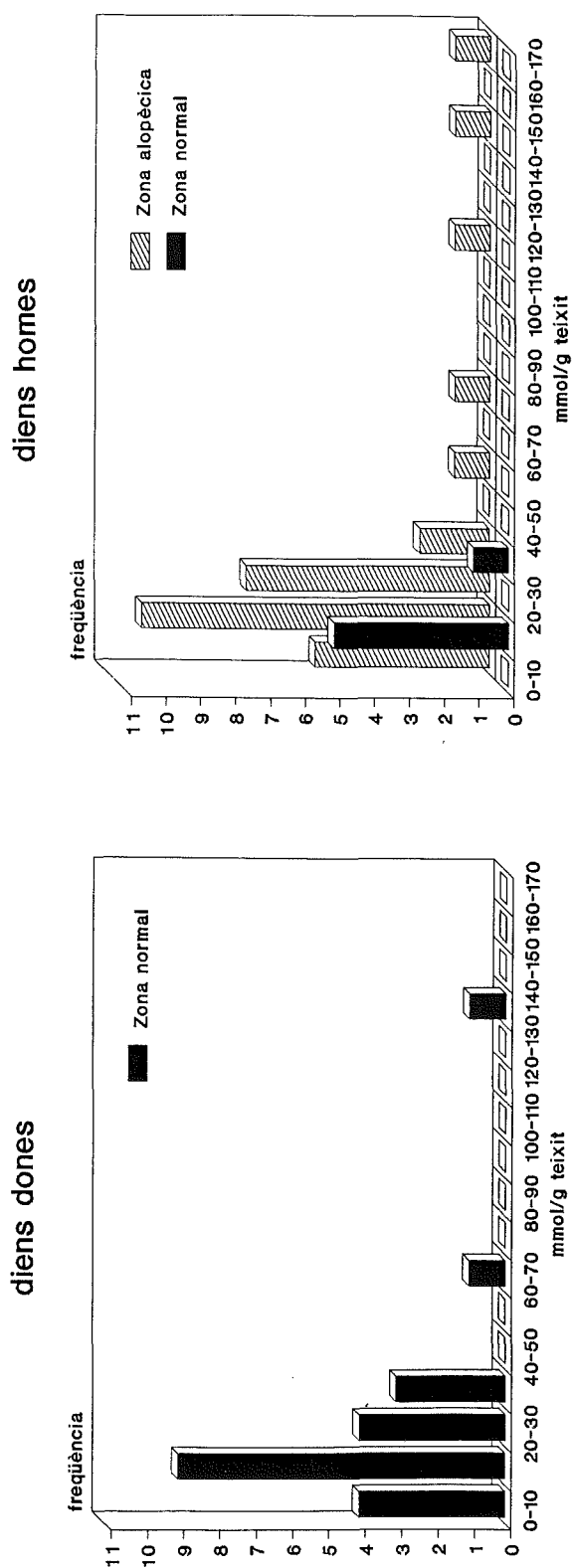


Fig. 31. Histograma de distribució de freqüències del contingut de diens.

9.- Lípids

Colesterol/g teixit

	Homes		Dones
Zona Normal	n=9 31,21 ± 31,2	S+	n=17 4,77 ± 1,6
Zona Alopèica	n=36 13,35 ± 25,7	—————	NS

TAULA 27.- Contingut de colesterol a la glàndula sebàcia en $\mu\text{mols/g}$ teixit (mitjana \pm desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test U de Mann-Whitney. + $p < 0,05$.

De tots els grups de mostres estudiades, només presenta una distribució normal el de mostres de zona no alopèica de dones.

En la fig. 32 podem veure la distribució de freqüències per a aquest paràmetre.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

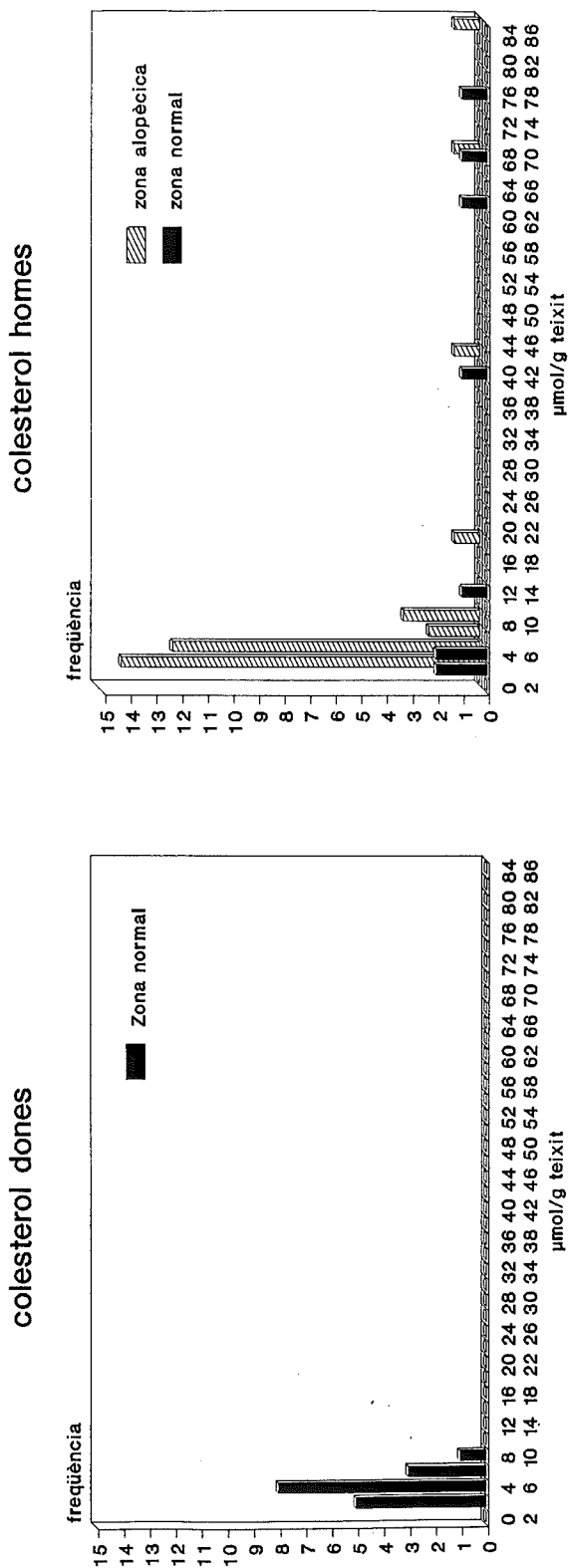


Fig.32. Histograma de distribució de freqüències del contingut de colesterol en la glàndula sebàcia.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Triglicèrids/g teixit

	Homes		Dones
	n=9		n=17
Zona Normal	52,82 ± 27,6	S*	84,99 ± 48,5
	NS		
	n=36		
Zona Alopèica	60,59 ± 35,8	—————	S+

TAULA 27.- Contingut de triglicèrids a la glàndula sebàcia en $\mu\text{mols/g}$ teixit (mitjana \pm desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test t d'Student (* $p < 0,05$), i U de Mann-Whitney (+ $p < 0,05$).

Els grups de mostres estudiades presenten una distribució normal en tots els casos, a excepció de les mostres de zona calba d'homes.

L'histograma de distribució de freqüències es pot veure a la fig. 33.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

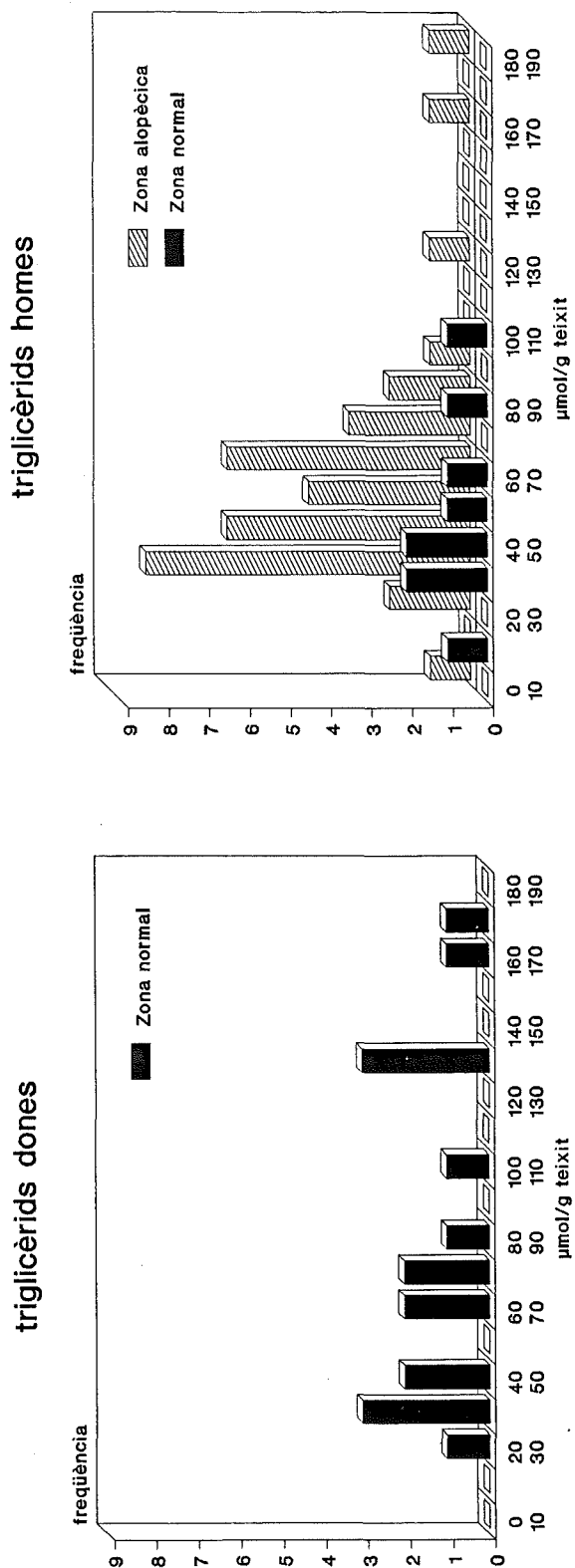


Fig.33.Histograma de distribució de freqüències del contingut de triglicèrids en la glàndula sebàcia.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Fosfolípids/g teixit

	Homes		Dones
Zona Normal	n=9 10,88 ± 7,0	NS	n=17 13,80 ± 9,2
Zona Alopècica	n=36 11,08 ± 11,0	—————	NS

TAULA 29.- Contingut de fosfolípids a la glàndula sebàcia en $\mu\text{mols/g}$ teixit (mitjana \pm desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test U de Mann-Whitney.

Les mostres estudiades presenten una distribució normal en tots els casos, a excepció del grup d'homes calbs.

En la figura 34 veiem la distribució de freqüències per al contingut de fosfolípids a les diferents zones.

Els resultats del contingut de lípids mostren una dispersió molt important. Una explicació d'aquest fet el podríem trobar possiblement -ja que hem expressat el contingut de lípids per g de teixit- a que l'àrea en la qual treballàvem (zona subepitelial que conté la glàndula sebàcia en el seu interior) era lògicament diferent quant a quantitat de teixit en les diferents mostres; així, la zona alopècica tenia un gruix més important per estar hipertrofiada la glàndula sebàcia i teníem per tant major volum de teixit total, cosa que en els altres teixits, com que treballàvem amb un teixit no hipertrofiat, l'àrea de teixit que contenia la glàndula sebàcia era més petita (veure fig. 7 de la introducció).

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Per altra banda, el ritme de producció de lípids en aquesta zona podria respondre a diferents freqüències segons es tractés de zones hipertrofiades o no, i per tant és difícil de comparar el contingut de lípids si, per exemple, en la zona alopècica aquests tenen un ritme de producció/eliminació més ràpid.

Els nostres resultats no han pogut ser comparats amb altres treballs donat que no hem localitzat cap treball que estudiï el contingut de lípids de la glàndula sebàcia. La majoria de treballs són fets de la secreció de la glàndula sebàcia o del sèu.

Però, pensant que el contingut de lípids pot tenir un paper clau en el creixement del cabell, podem comprovar que hi ha una disminució estadísticament significativa (U de Mann-Whitney, $p = 0,039$) del contingut de colesterol en les zones calbes respecte a la zona poblada. Aquest fet confirma la hipòtesi que el colesterol es comportaria com a un lípid protector de la caiguda del cabell; per altra part, estudis realitzats per Nogués i col. (138) mostren que el colesterol no inhibeix el creixement del cultiu cel.lular de fol.licle pilós.

Si bé també trobem una disminució estadísticament significativa en el contingut de colesterol en les dones (U de Mann-Whitney, $p = 0,021$) respecte a l'home no calb, aquest fet no va acompanyat d'una caiguda de cabell que com ja hem indicat respondria a què la dona mostra una protecció davant la lipoperoxidació lipídica per tenir un contingut de GSH més alt.

Quant al contingut de triglicèrids, l'augment estadísticament significatiu (t d'Student, $p = 0,042$) que s'observa en dones respecte a homes no calbs i l'augment de la zona alopècica davant la no alopècica ens corrobora el fet de major presència de RLL quan hi ha un augment dels triglicèrids.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

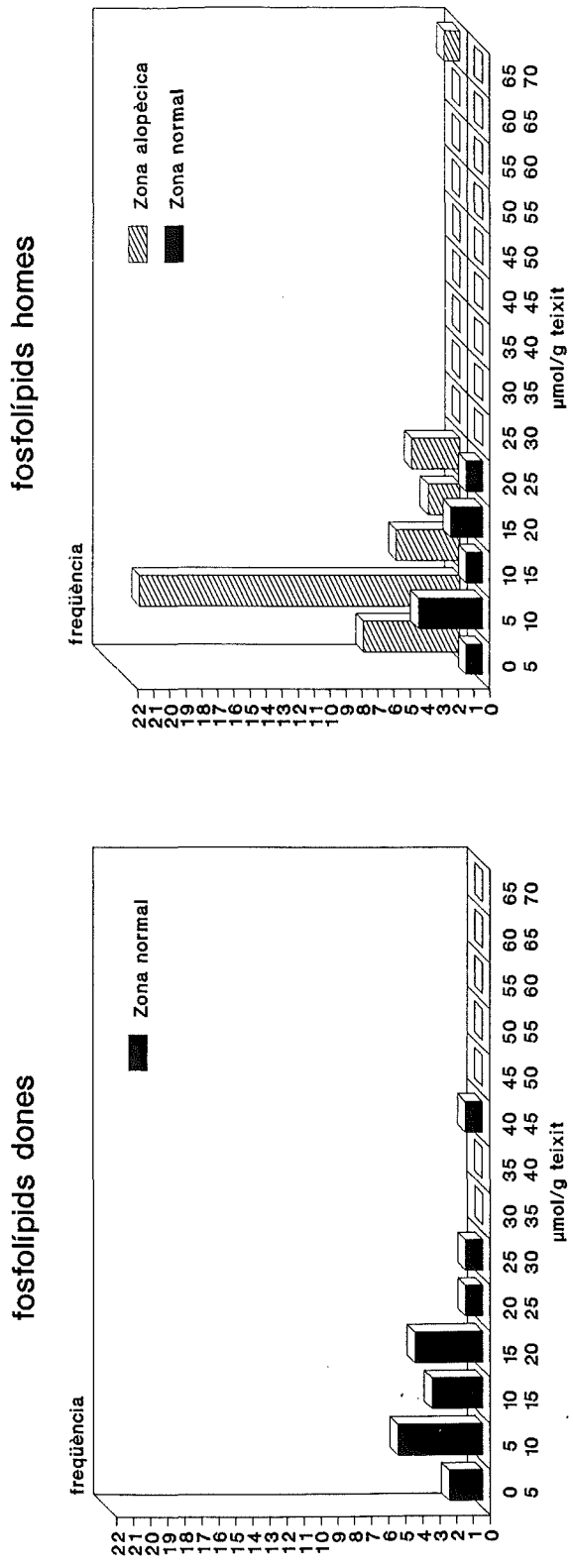


Fig. 34. Histograma de distribució de freqüències del contingut de fosfolípids de la glàndula sebàcia.

10.- Proteïnes / g teixit

Proteïnes/g teixit

	Homes		Dones
	n=8		n=21
Zona Normal	18,11 ± 6,1	NS	16,70 ± 5,1
	NS		
	n=26		
Zona Alopècica	15,07 ± 4,9	—————→	NS

TAULA 30.- Proteïnes de citosol de la glàndula sebàcia en mg per g de teixit de glàndula sebàcia (mitjana ± desviació estàndard). Les comparacions s'han fet aplicant el test t d'Student.

La variable proteïnes per gram de teixit té una distribució normal en tots els grups de mostres estudiades.

No s'observen diferències significatives del contingut de proteïnes de citosol en cap de les mostres estudiades, encara que es pot observar un lleuger augment de les proteïnes en zona normal d'home respecte als altres grups estudiats.

Aquests resultats ens podrien indicar que hem treballat en tot moment amb zones que tenien el mateix contingut de proteïnes.

El fet de trobar la mateixa quantitat de proteïnes en el teixit de zona normal

RESULTATS I DISCUSSIÓ

d'home també ens indica que encara que hem treballat amb petites quantitats de mostres aconseguim les mateixes condicions de treball que en altres zones.

En la figura 35 veiem la distribució de freqüències del contingut de proteïnes.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

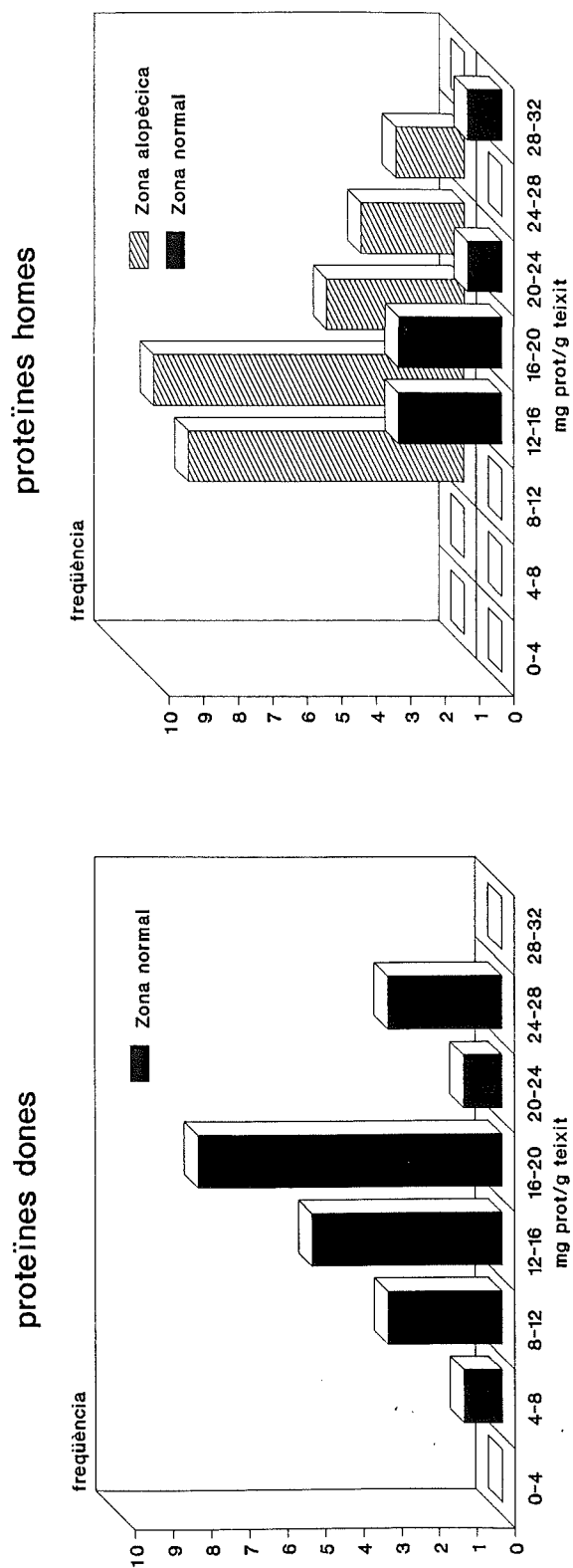


Fig.35. Histograma de distribució de freqüències de proteïnes/teixit de la glàndula sebàcia.

V.- DISCUSSIÓ GLOBAL

V.- DISCUSSIÓ GLOBAL

En el cas de l'alopecia seboreica intervenen, com ja s'ha dit, factors genètics i factors androgènics. Així, en estudis realitzats per Puerto i col. (156) s'ha vist que existeixen diferències entre el metabolisme androgènic de zones calbes i de zones no calbes de pacients amb alopecia androgenètica masculina. L'activitat 5- α -reductasa (5- α -R) és superior en les zones alopeciques respecte a les zones no calbes; l'activitat 3- α - β -hidroxiesteroide oxoreductasa, com a precursora de la producció de 3- α - i 3- β -androstanodiols (α DIOL i β DIOL), també és superior en la zona alopecica, essent més freqüent la producció de β DIOL. En canvi, l'activitat de la 17, β -hidroxiesteroide oxoreductasa mostra que hi ha més formació d'androstenodiona, a partir de la testosterona, en les zones no alopeciques respecte a les calbes, així com d'androstanodiona a partir de la DHT. El predomini de formació de β DIOL en les zones alopeciques amb una gran hipertròfia sebàcia reforça la hipòtesi del possible paper d'aquest metabòlit en els mecanismes de regulació de la secreció sebàcia.

El fet que hi hagi un augment de β DIOL en la glàndula sebàcia de les zones calbes ens podria indicar un major metabolisme oxidatiu, que donaria lloc a la formació de triols amb la consegüent formació de metabòlits epòxids intermedis originaris de RLL i per tant a un augment de l'estrès oxidatiu (127, 140). Aquest estrès oxidatiu vindria també acompanyat per un augment de peroxidació dels lípids presents a la glàndula sebàcia. El contingut de lípids de la zona alopecica està augmentat respecte al de la zona normal; el nostre estudi mostra un increment -encara que estadísticament no significatiu- de triglicèrids, així com un lleuger augment del contingut de fosfolípids. Si expresséssim aquests dos paràmetres per superfície de teixit, tenint en compte la hipertròfia de la glàndula sebàcia en el teixit alopecic (fig. 7), probablement els augments haurien

DISCUSSIÓ GLOBAL

resultat significatiu, mostrant-nos per tant que en la zona calba existeix més quantitat de lípids susceptibles de ser atacats per RLL (resultat dels triols) donant lloc a la lipoperoxidació. Així, doncs, triols i lipoperòxids serien l'origen d'un estrès oxidatiu en la zona alopecica.

Per tant, en l'alopecia seboreica masculina poden intervenir RLL involucrats en la peroxidació dels lípids propis del cuir pilós, de manera que impedeixin la proliferació cel.lular de l'arrel capilar. Aquest fet ha estat confirmat per estudis fets en cultiu cel.lular de fol.licle pilós per Nogués (138), en els quals s'observa una inhibició significativa del creixement per efecte dels triglicèrids i fosfolípids propis de la glàndula sebàcia; i per altra banda perquè es compleixen els criteris per involucrar els processos mitjançats per radicals lliures en la patogènesi que es poden veure a la taula 5 de l'apartat d'Introducció (18).

Els nostres resultats semblen confirmar aquesta hipòtesi, ja que mostren un augment de la V_{max} de la GST de la glàndula sebàcia de la zona alopecica respecte a la zona no calba. L'augment de la V_{max} d'un enzim ens indica que aquest enzim ha estat possiblement induït, i per tant l'existència d'algun motiu d'inducció.

La GST, enzim com ja hem dit detoxificador relacionat amb l'eliminació d'epòxids, RLL i molts altres substrats endògens i exògens, té la capacitat de ser induït quan existeix un estrès oxidatiu important (126, 27). Per tant, si els nostres resultats mostren que està augmentat, podríem pensar que en realitat existeix una inducció secundària a un augment de RLL procedents possiblement del metabolisme dels andrògens.

Aquest fet queda encara més recolzat per la presència augmentada del malondialdehid en la zona calba respecte a les altres zones estudiades, indicant, doncs, presència de processos de lipoperoxidació relacionats amb RLL.

DISCUSSIÓ GLOBAL

Per tant, en la glàndula sebàcia existeix possiblement un augment de RLL que anirà acompanyat d'un augment de l'activitat GST per tal de poder eliminar aquests compostos, que són tòxics per a l'organisme i en especial per a l'arrel del cabell. Els fets demostren, però, que això no és efectiu en els homes que presenten alopecía; és a dir, hi ha un augment de la GST però el cabell continua caient.

S'ha de tenir en compte que en les zones de glàndules sebàcies de les mostres de dones s'ha vist que hi ha un augment de l'activitat GST respecte a les zones no calbes dels homes, probablement secundari a què es tracta d'un grup de dones menopàusiques i per tant existeix un component hormonal androgènic. Malgrat tot, en aquest cas hi ha un augment de la GST però no existeix caiguda de cabell.

L'explicació a aquesta diferència entre les dones menopàusiques i que tenen augmentat relativament el metabolisme androgènic, i les zones calbes d'homes que presenten un metabolisme dels andrògens diferent al de les zones poblades, la podríem trobar en l'estudi que hem realitzat del contingut de GSH. Així, hem observat que tant en les dones com en la zona no calba dels homes hi ha una major quantitat de GSH respecte a la zona calba. Aquesta diferència és important, ja que la disminució és del 36 % quan s'expressa el resultat per mg de proteïna i del 62% quan s'expressa per g de teixit. El GSH és un tripèptid important per al funcionament de molts enzims del nostre organisme, com és el cas de la glutatió peroxidasa i la GST. A part, intervé de forma directa en l'eliminació de RLL i en mantenir la forma reduïda de moltes proteïnes amb grups -SH, com és la pròpia GST. Per tant, podríem pensar que el fet que els homes amb un excés de RLL desenvolupin una alopecía pot ser secundari a una manca de GSH, la qual estaria produïda per una regeneració deficient del GSH per bloqueig de l'enzim 6GPDH o per una manca de síntesi de GSH, o simplement per un esgotament del GSH.

DISCUSSIÓ GLOBAL

Aquesta manca de GSH podria produir una inhibició de l'enzim *in vivo* per oxidació dels grups -SH de la zona activa, però en els nostres estudis no hem pogut mostrar-ho pel fet que en el medi de la reacció *in vitro* afegim GSH, de forma que reconstituïm l'enzim oxidat i no reproduïm, per tant, la forma enzimàtica oxidada que en les condicions fisiològiques de la zona calba segurament podrien existir.

Per altra banda, altres treballs que s'han realitzat semblen confirmar aquest fet, ja que en l'estudi dels metabòlits secundaris de la cadena de lipoperoxidació iniciada per RLL, es mostra en la zona calba un augment de malondialdehid que provoca un bloqueig de l'enzim 6GPDH (122), regenerador del GSSG. Aquesta seria una altra causa de la disminució del GSH, tripèptid molt important per a la defensa de l'organisme davant els RLL en la zona calba de l'home.

Així, doncs, els homes mostrarien un augment de la GST, però aquesta estaria inactivada per oxidació dels seus grups -SH o no podria actuar per manca de GSH. Per aquest fet, l'arrel del fol·licle pilós estaria totalment sota l'efecte tòxic de la lipoperoxidació a causa d'un augment dels RLL del metabolisme dels andrògens, i no podria defensar-se correctament per manca de GSH.

Un altre punt per pensar que el sistema GST/GSH té un paper important en l'etiopatogènia de l'alopecía androgenètica de l'home, és l'estudi que hem fet *in vitro* de diferents andrògens sobre la principal activitat de conjugació de la GST; els andrògens estudiats poden inhibir l'activitat de conjugació de l'enzim, fet demostrat de forma general per a les GST en fetge de rata (110). Si a més considerem que en l'estudi d'inhibició en el teixit de glàndula sebàcia el resultat és més complex, a causa possiblement del major nombre de metabòlits secundaris dels andrògens, podem pensar que la GST juga un paper rellevant en el metabolisme d'andrògens, i en zones on aquest metabolisme sembla estar augmentat o modificat pot existir una major variació del sistema GST.

DISCUSSIÓ GLOBAL

El nostre treball ens ha permès conèixer la presència de GST en glàndula sebàcia, de la qual hi havia molt pocs estudis i no es coneixia el patró d'isoformes existents. Nosaltres hem demostrat per tècniques de cromatografia d'intercanvi iònic i cromatoenfoc que existeix presència de les tres formes -àcida, bàsica i neutra- descrites fins ara, a més d'una possible nova forma identificada com a 5,5 en fetge i cervell (189).

La isoforma majoritària és la GST àcida, identificada com a pi per tècniques d'ELISA. Aquesta forma de GST és majoritària gairebé en tots els teixits, a excepció del fetge, i té un paper molt important en la detoxificació de carcinògens i lipoperòxids; per tant, pot ser una peça clau en la defensa de la pell.

Les formes alfa, com a segon grup en percentatge de presència, no han estat identificades totalment per tècniques d'ELISA, ja que Del Boccio i col. (46) ja van descriure que la GST bàsica present en pell no és idèntica a la del fetge, i en canvi els anticossos de què nosaltres disposàvem estaven produïts contra la GST alfa de fetge i no pas contra la de pell. Per aquest motiu no hem obtingut una resolució tan bona com en el cas de la identificació de la GST àcida. El percentatge de GST bàsiques de les zones calbes és una mica més alt que en les altres zones poblades tant de dona com d'home, i ens podria possiblement indicar que la inducció de la GST que trobem pot ser a expenses en part de les GST bàsiques, les quals tenen importància en l'eliminació d'hidroperòxids i a més presenten funció glutatió peroxidasa i funció isomerasa d'esteroides. Nosaltres no hem pogut demostrar aquestes dues funcions, possiblement perquè haurien estat necessàries columnes d'afinitat de GSH per tal de purificar més l'isoenzim alfa.

Quant al grup de GST mu, se'ns ha mostrat un patró semblant a altres teixits; així, hem observat que en algunes persones aquest enzim no s'expressa, amb la conseqüent disminució de la capacitat de l'individu pel que fa a l'eliminació

d'epòxids.

Així, podríem dir que la unitat pilosebàcia té un sistema de defensa suficientment bo davant lipoperòxids i carcinògens -GST àcides-, davant hidroperòxids -GST bàsiques- i davant epòxids -GST neutres-, però un desequilibri en el sistema GST/GSH pot donar lloc a la patologia, com és en aquest cas l'alopecía androgenètica masculina. En qualsevol cas, els nostres resultats aporten noves dades referents a la etiopatogènia dels processos d'hipertròfia sebàcia i de l'alopecía androgenètica masculina.

VI.- CONCLUSIONS

VI.- CONCLUSIONS

- 1.- L'activitat GST de la pell de cuir pilós es localitza preferentment (95%) a la glàndula sebàcia.
- 2.- La GST citosòlica de la glàndula sebàcia no mostra *in vitro* activitat isomerasa.
- 3.- *In vitro*, l'activitat de conjugació portada a terme per la GST entre el GSH i el substrat electrofílic CDNB és inhibida per diferents andrògens.
- 4.- La glàndula sebàcia de zona alopètica presenta un augment de malondialdehid, que demostra l'increment de peroxidació lipídica en aquesta zona respecte a les zones poblades del cuir pilós de l'home i de la dona.
- 5.- En la zona alopètica d'home hi ha una disminució del contingut del colesterol i un augment de triglicèrids i fosfolípids per àrea de teixit.
- 6.- La zona calba d'homes presenta, respecte a la zona no calba, un augment de l'activitat GST i una disminució de l'afinitat de l'enzim pel substrat CDNB, a través de l'increment de la Vmax i de la Km, respectivament.
- 7.- El cromatoenfoc del citosol de la glàndula sebàcia demostra la presència de les tres formes de GST descrites fins ara -àcida, bàsica i neutra- a més d'una nova forma de pI 5,5.
- 8.- La forma majoritària de GST en glàndula sebàcia és la GST àcida, identificada com a pI per tècniques d'ELISA.

CONCLUSIONS

9.- La GST de glàndula sebàcia mostra en dones menopàusiques un augment de la Vmax i de la Km respecte als homes.

10.- El contingut de GSH en la glàndula sebàcia de cuir pilós no presenta diferències entre sexes.

11.- La glàndula sebàcia de zones de cuir pilós amb alopecia androgenètica mostra una disminució important del contingut de GSH respecte a les zones poblades tant d'home com de dona.

12.- En la zona alopèica existeix un augment de RLL procedents del metabolisme dels andrògens, un augment de triglicèrids i fosfolípids per àrea de teixit i un desequilibri en el sistema GSH/GST per un esgotament del GSH que impossibilita la funció de la GST o fins i tot la inhibeix per oxidació dels seus grups -SH. Tot això representa una aportació a l'etiopatogènia de l'alopecia androgenètica masculina que pot obrir nous camins a la terapèutica.