

Valor clínico de la gamma glutamil transpeptidasa en el infarto de miocardio

Por los Dres. Prof. LEON DE SOLDATI,* HECTOR E. CAMMAROTA **
y FEDERICO CHALBAUD ***

INTRODUCCION

Ya en el VIII Congreso Internacional de Cardiología reunido en Lima (Perú) en 1968, tuvimos oportunidad de comunicar nuestras primeras observaciones sobre una nueva enzima: la gamma glutamil transpeptidasa, cuya particularidad es la de elevarse tardíamente en el infarto de miocardio.

Así como la creatinofosfoquinasa se ha mostrado de suma utilidad diagnóstica para el reconocimiento temprano del infarto de miocardio; la gamma glutamil transpeptidasa nos permite hacer el diagnóstico de necrosis cardíaca, cuando ya todas las otras enzimas miocárdicas vuelven a sus niveles normales.

En estos dos últimos años, hemos efectuado estudios seriados en pacientes con infarto agudo de miocardio, comparando el comportamiento de la gamma glutamil con el de las otras "enzimas miocárdicas".

El motivo del presente trabajo es el de comunicar nuestra experiencia a través de 58 pacientes estudiados, como así la técnica detallada que hemos adoptado para la determinación de la enzima.

MATERIAL Y METODO

Hemos determinado el valor de la gamma glutamil transpeptidasa en 98 personas normales de ambos sexos y cuyas edades oscilaban entre los 16 y los 65 años. En todas estas personas se descartó toda afección hepatobiliar o cardíaca. Para el hombre los valores hallados fueron: 52 ± 22 unidades por ml. Valor máximo hasta 110 unidades. Para la mujer: 35 ± 14 unidades por ml. Valor máximo hasta 60 unidades.

El método utilizado fue el de Goldberg y colaboradores.

Las técnicas utilizadas para las determinaciones de las otras enzimas fueron:

Creatinofosfoquinasa	Rosalki	M 5 a 50 mU/ml F 5 a 30 mU/ml
Transaminasa oxalacética	Reitman-Frankel	8 a 40 U/ml
Dehidrogenasa láctico	Berger-Broida	100 a 500 U/ml
Dehidrogenasa hidroxibutírico	Rosalki	55 a 125 U/ml
		límite máximo: 145 U/ml
Isoenzimas de la dehidrogenasa láctico	Ornstein-Davis	L1: 15 a 35 %
	Dietz-Lubrano	L2: 25 a 50 % L3: 10 a 35 % L4: 1 a 15 % L5: 0 a 5 %

Servicio de Cardiología del Hospital Alvear, Buenos Aires.

* Jefe del Servicio de Cardiología.

** A cargo del Laboratorio Clínico.

*** Médico cardiólogo.

Se estudiaron 58 pacientes con infarto agudo de miocardio; 45 de sexo masculino cuyas edades oscilaron entre los 38 y los 74 años; 13 de sexo femenino entre los 40 y los 67 años de edad.

Método: Diferentes sustratos pueden ser utilizados para determinar la actividad de la gamma glutamil transpeptidasa en el suero sanguíneo humano.

Szczeklik y colab. utilizan como sustrato, alfa (N-gamma-DL-glutamil)aminopropionitrilo, que en presencia de la enzima es hidrolizado, originando ácido glutámico y alfa aminopropionitrilo. Por su parte, Goldberg y colab. utilizan un sustrato sintético, N-(DL- γ glutamil) anilina, el que incubado en presencia del suero a examinar (que es portador de gamma glutamil transpeptidasa) y de una solución buffer de Tris-1-metionina (la metionina actúa como aceptor del grupo gamma glutamil), produce la liberación de anilina, la cual es diazotada con nitrito de sodio; el exceso de nitrito es eliminado con sulfamato de amonio y la anilina diazotada se hace reaccionar con una solución de N-(1-naftil) etilendiamina, con lo que se origina un compuesto de color rojo

2) Sustrato: Disolver N-(DL-gamma-glutamil)anilina (0,00225 M) en solución de NaOH isomolar. Conservar a 4° C para disminuir la hidrólisis espontánea.

3) Acido tricloroacético al 40 %.

4) Solución de nitrito de sodio (400 mg por 100 ml de agua dest.) el cual se prepara en el momento del uso.

5) Solución de sulfamato de amonio (2 g por 100 ml de agua dest.).

6) Solución de N-(1-naftil)etilendiamina, diclorhidrato en etanol 95 % (150 mg por 100 ml de etanol). Se conserva en frasco caramelo durante 30 días a 4° C.

Modo de operar:

Se disponen una serie de cinco tubos a saber: tubo problema (por duplicado), tubo enzima, tubo sustrato y tubo blanco.

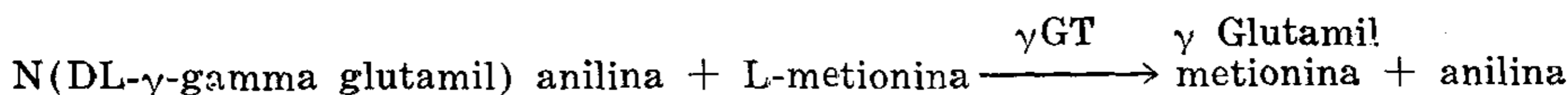
El tubo problema lleva: sustrato, suero a examinar diluido en agua destilada en la proporción 1:5 y buffer.

El tubo enzima no lleva sustrato, se lo reemplaza por agua destilada. En el tubo sustrato se reemplaza el suero por agua destilada y en el tubo denominado blanco se reemplaza el sustrato y el suero por agua destilada; tal como se indica en el siguiente cuadro:

Tubo problema (por duplicado)		Tubo enzima		Tubo sustrato		Tubo blanco	
sustrato	1 ml	agua dest.	1 ml	sustrato	1 ml	agua dest.	1 ml
suero 1:5	1 ml	suero 1:5	1 ml	agua dest.	1 ml	agua dest.	1 ml
buffer	1 ml	buffer	1 ml	buffer	1 ml	buffer	1 ml

morado, cuya densidad óptica es leída en un fotocolorímetro frente a una curva testigo de anilina, la que ha sido tratada de idéntica manera que el suero problema.

Se incuban todos los tubos durante dos horas en baño de agua a 38° C y luego se agrega a cada tubo 1 ml de ácido tricloroacético al 40 %. La anilina liberada se diazota rápidamente



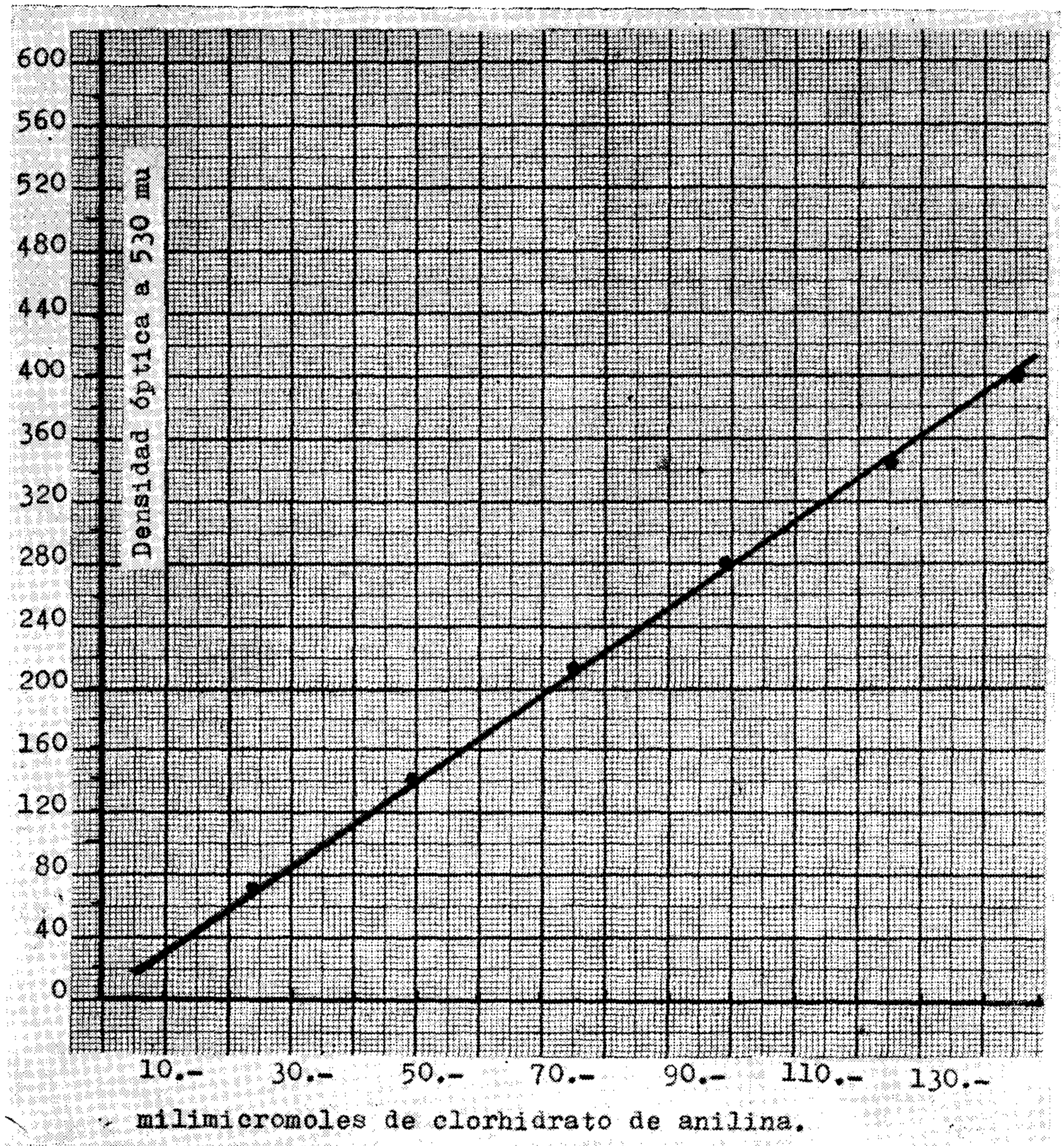
Una unidad de gamma glutamil está dada por la actividad que cataliza la liberación de 1 milimicromol de anilina por hora y por ml de suero.

Reactivos:

1) Solución buffer: Se prepara disolviendo 8,95 g de 1-metionina en 1000 ml de solución Tris (hidroximetil-aminometano) 0,05 M. Se conserva a 4° C durante tres meses.

con 1 ml de solución fresca de nitrito de sodio. A los tres minutos el exceso de nitrito es eliminado por agregado de 1 ml de sulfamato de amonio. Dos minutos más tarde se agregan a cada tubo, 2 ml de N-(1-naftil)etilendiamina y se eliminan más tarde las proteínas por centrifugación. La solución límpida y de color rojo morado se lee en un espectrofotocolorímetro a 560 mu, llevando a 100 % de transmisión

FIGURA 1



Curva representativa de la densidad óptica del compuesto "azo" frente a distintas concentraciones de clorhidrato de anilina.

con el tubo en blanco. Nosotros empleamos un Spectronic 20 y la lectura la efectuamos a los 15 minutos después de haber agregado la naftil etilendiamina.

El promedio de las lecturas de los dos tubos problema, se resta del valor de la lectura del tubo enzima y de la lectura del tubo sustrato; así el resultado corresponde a la lectura real del problema. Ese valor se lleva a una curva de calibración y se convierten en milimicromoles de anilina.

Curva de Calibración:

En una serie de tubos de ensayo se colocan 1 ml de Tris buffer, 1 ml de suero diluido 1:5 y 1 ml de ácido tricloroacético al 40%. A cada tubo se

le agrega 1 ml de clorhidrato de anilina, solución que previamente se prepara en concentraciones crecientes desde 10 a 150 milimicromoles en solución isomolar de NaOH. El suero es agregado para corregir la pequeña pérdida (inferior al 10%) de anilina o del colorante "azo", por la precipitación de las proteínas. La conversión de la anilina al compuesto "azo" se logra siguiendo todos los pasos señalados para el problema. Se utiliza un blanco con todos los reactivos en el cual se ha reemplazado el suero por agua destilada.

Si la actividad del suero excede las 375 unidades, se repite el ensayo con el suero más diluido (fig. 1).

RESULTADOS

En el cuadro siguiente se indican los valores obtenidos en un grupo de 58 pacientes estudiados, con infarto agudo de miocardio.

Las determinaciones fueron realizadas cada 48 horas.

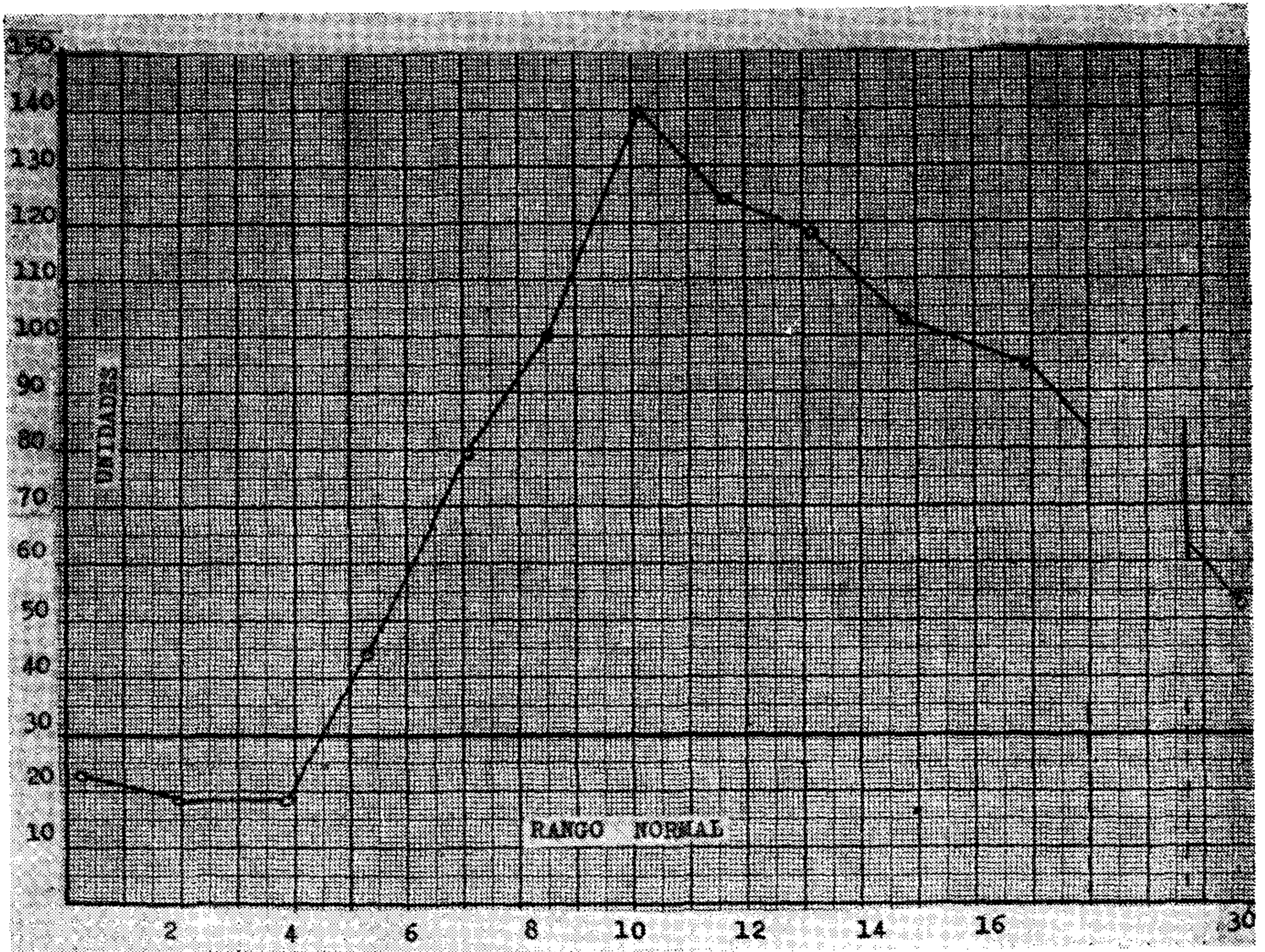
El valor máximo que alcanzó la gamma glutamil, en los pacientes de sexo masculino fue de 510 unidades y el valor mínimo fue de 250 unidades.

Paciente	Edad	Sexo	Electrocardiograma	Pico máximo	Nivel máximo U/ml	Se normaliza a:
T. T.	42	M	Patológico	8º día	450	28 días
A. C.	54	M	Patológico	9º día	320	32 días
J. T.	63	M	Patológico	9º día	460	29 días
S. R. de V.	50 **	F	Patológico	10º día	185	27 días
I. V.	58	M	Patológico	8º día	310	25 días
L. D.	45	M	Patológico	9º día	270	31 días
M. B.	52 **	M	Patológico	9º día	370	28 días
J. C.	60	M	Patológico	8º día	385	28 días
S. K.	74	M	Patológico	7º día	250	falleció 20 d.
O. F.	61 *	M	Patológico	9º día	300	27 días
L. G.	49	M	Patológico	9º día	280	32 días
N. U.	39 **	M	Patológico	8º día	400	26 días
P. de R.	67	F	Patológico	10º día	180	25 días
E. de Z.	54	F	Patológico	9º día	250	23 días
F. M.	38 *	M	Patológico	8º día	470	31 días
E. W.	70	M	Patológico	8º día	350	falleció 12 d.
G. S.	69	M	Patológico	10º día	375	26 días
M. T. de C.	48	F	Patológico	9º día	208	30 días
J. G.	59	M	Patológico	8º día	285	28 días
I. D.	69	M	Patológico	9º día	410	24 días
L. L.	55	M	Patológico	10º día	510	33 días
R. C.	60	M	Patológico	9º día	470	26 días
L. F.	43	M	Patológico	8º día	390	27 días
I. M.	48	M	Patológico	8º día	350	25 días
L. C.	53	M	Patológico	9º día	355	31 días
M. A.	64	M	Patológico	10º día	270	falleció 27 d.
S. T.	67	F	Patológico	9º día	410	32 días
L. H. de V.	48	F	Patológico	9º día	210	24 días
J. G.	71	M	Patológico	10º día	410	falleció 18 d.
L. K.	58 *	M	Patológico	8º día	290	29 días
M. G.	53	M	Patológico	9º día	330	27 días
R. F.	49	M	Patológico	10º día	410	28 días
E. R. de E.	40 **	F	Patológico	8º día	290	23 días
M. A.	64	M	Patológico	10º día	375	32 días
A. C.	69	M	Patológico	8º día	300	29 días
Z. B. de D.	61	F	Patológico	8º día	300	26 días
I. F.	56 **	M	Patológico	10º día	405	33 días
C. F.	59	M	Patológico	8º día	390	26 días
M. L.	72	M	Patológico	9º día	500	32 días
J. A.	65	M	Patológico	10º día	325	29 días
A. M.	57	M	Patológico	10º día	415	28 días
U. R.	52	M	Patológico	9º día	275	30 días
T. de P.	51 **	F	Patológico	10º día	210	27 días
C. B.	49	M	Patológico	8º día	390	25 días
V. R.	65 **	M	Patológico	10º día	450	32 días
H. J.	58	M	Patológico	10º día	300	30 días
P. S.	63	M	Patológico	9º día	330	28 días
C. R.	57 **	F	Patológico	10º día	290	32 días
P. P.	54	M	Patológico	8º día	400	30 días
R. E.	52	M	Patológico	10º día	380	29 días
J. O.	51	M	Patológico	9º día	415	28 días
J. P.	57	M	Patológico	8º día	510	33 días
O. C. de R.	59	F	Patológico	10º día	330	27 días
I. K.	60	M	Patológico	10º día	375	32 días
B. M.	62	M	Patológico	9º día	328	27 días
C. P.	51	M	Patológico	10º día	310	26 días
G. P.	54	M	Patológico	8º día	400	32 días
M. S. de V.	59 **	F	Patológico	10º día	270	25 días

* Presentaron aumento temprano de la enzima en el segundo día.

** Presentaron aumento de la enzima a partir del segundo o tercer día continuando su incremento hasta llegar al pico máximo, para luego ir declinando.

FIGURA 2



Actividad de la gamma glutamil transpeptidasa en una paciente de 48 años con infarto de miocardio. Se observa que la gamma glutamil transpeptidasa comienza a subir al quinto día y toma sus valores máximos en el décimo día persistiendo con niveles superiores al normal hasta el día 29 después de la oclusión coronaria.

En las pacientes el máximo valor fue de 410 unidades y el mínimo de 180 unidades.

La normalización de la enzima se alcanzó entre los 23 y los 33 días después del infarto (fig. 2).

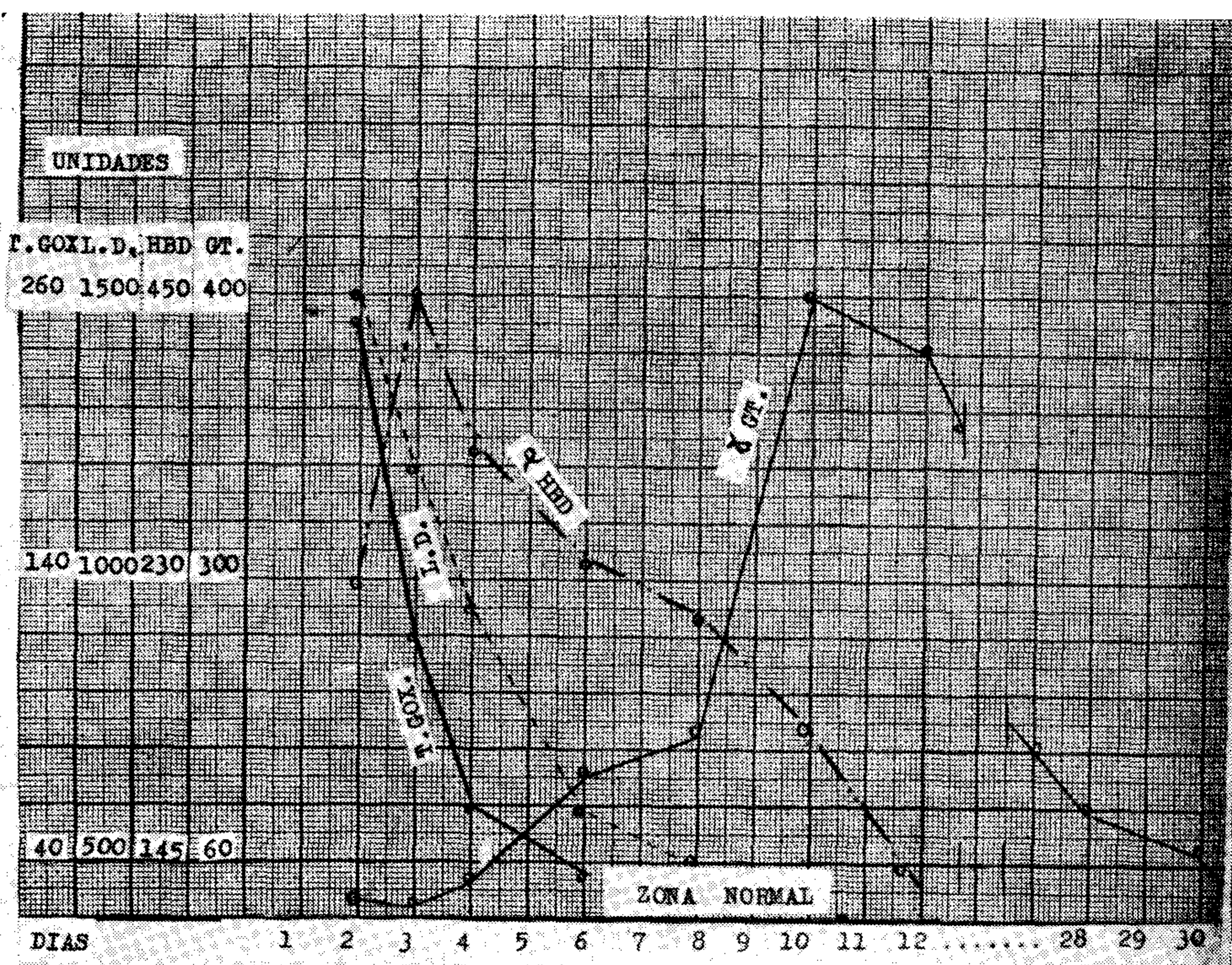
La determinación de la creatinofosfoquinasa, ya mostró niveles elevados en el primer día del accidente vascular, en todos aquellos casos en que el paciente pudo ser reconocido tempranamente. La transaminasa oxalacética mostró sus máximos valores entre las 24 y las 48 hs., volviendo a sus niveles normales entre el 4º y el 5º día. La dehidrogenasa láctica, mostró sus valores más elevados alrededor del segundo día y se normalizó entre el 7º y 8º día.

Tres pacientes (J. T.; S. K., y E. de Z. de nuestra casuística) mostraron niveles elevados de la dehidrogenasa láctica hasta el 10º día. La dehidrogenasa alfa hidroxibutírico alcanzó su pico máximo alrededor de las 72 horas y se normalizó entre los días 10º y 12º. Las isoenzimas de la dehidrogenasa láctica, además de su especificidad histórica, resultaron ser muy

precoces, pues ya entre el primer y segundo día mostraron sus características patrones de infarto de miocardio (figura 3).

En los 58 pacientes estudiados, se observó en 45 de ellos un gradual aumento de la enzima (gamma glutamil) a partir de los días cuarto y quinto, aumento que llegó a su pico máximo entre los días 8º y 10º, para ir luego disminuyendo lentamente llegando a sus niveles normales recién entre los días 23º y 33º después del accidente vascular. En tres pacientes se observó un leve incremento de la gamma glutamil, ya en el segundo día, aumento que luego desapareció, para volver a manifestarse al quinto día, normalizándose alrededor del mes de la oclusión coronaria, describiendo su curva característica. Otros once pacientes mostraron un ligero aumento de la enzima entre el segundo y tercer día, niveles que fueron aumentando gradualmente hasta el octavo o décimo día en que comenzaron a declinar, normalizándose alrededor del mes.

FIGURA 3



Actividades de las "enzimas miocárdicas" en un paciente con infarto agudo de miocardio. La transaminasa glutámico oxalacética se normalizó al 5º día aproximadamente; la dehidrogenasa láctico lo hizo al 8º día; la dehidrogenasa alfa hidroxibutírico se normalizó en el día 12º aproximadamente, mientras que la gamma glutamil transpeptidasa volvió a sus valores normales recién a los 30 días.

Este irregular comportamiento de la gamma glutamil transpeptidasa, podría ser debido, en los casos en que se asiste a un leve aumento temprano, a la congestión hepática resultante de la insuficiencia cardíaca concomitante al infarto cardíaco. Este aumento sería pasajero en algunos pacientes y en otros no. En aquellos pacientes en los que la elevación de la enzima es tardía —lo que es la regla— su elevación estaría condicionada según algunos autores, a la destrucción de la fracción microsómica de la célula miocárdica; fracción que sería la última en destruirse. Para estos autores la elevación de la enzima sería un índice de destrucción celular. Por otra parte, otros autores sostienen que la gamma glutamil transpeptidasa sería un parámetro de la reparación tisular, ya que luego de producida la necrosis, la zona es invadida por un infiltrado de leucocitos, con la consiguiente liberación de lisosimas y posterior proliferación de las

células mesenquimatosas, produciéndose entonces la remoción del tejido necrosado y su reparación ulterior.

No parecería existir relación entre la tasa enzimática y la gravedad del cuadro clínico, ya que los cuatro pacientes de nuestra serie que fallecieron mostraron niveles de gamma glutamil inferiores, frente a otros pacientes que se recuperaron.

COMENTARIO

La gamma glutamil transpeptidasa (γ GT) es la enzima que cataliza la transferencia del grupo gamma glutamil desde el glutatión y otros gamma glutamil péptidos, hacia aceptores determinados, como péptidos, 1-aminoácidos o agua. Esta enzima ha sido encontrada en el páncreas humano, riñones, hígado, bilis, orina y suero sanguíneo. Los glóbulos rojos la contienen en cantidades sumamente reducidas. La mayor concentración corres-

ponde a hígado y riñones; mientras que en el corazón se encuentra en pequeñas cantidades; la relación entre la actividad cardíaca y hepática es de 1:10. No obstante su baja concentración en el tejido cardíaco, varios investigadores sugirieron su estudio en el suero de los pacientes con infarto de miocardio, dada la importancia del ácido glutámico en el metabolismo cardíaco (Bernsmeier y Rudolph, 1961; Matsubara, 1962). Agostoni, Ideo y Stabilini en 1965 efectuaron el estudio de esta enzima en pacientes con infarto de miocardio, utilizando como sustrato gamma-l-glutamyl beta naftilamida. Nosotros comenzamos el estudio de la gamma glutamil en 1967 empleando en nuestras primeras determinaciones el mismo sustrato utilizado por Agostini y colab.; posteriormente hemos adoptado el método de Goldbarg, Rutenburg y colab. ya que encontramos que el sustrato que utilizan estos autores presenta menos hidrólisis espontánea que el utilizado por Agostoni. La enzima ha sido ampliamente estudiada también por Szczeklik, Orłowski y colaboradores en 1961 y por Goldbarg, Rutenburg y colaboradores en 1963 en distintas afecciones y muy especialmente en los pacientes portadores de tumor hepático metastásico de origen pancreático o no.

La función fisiológica de la gamma glutamil transpeptidasa no es conocida en el organismo humano. Se ha pensado que intervendría en la regulación de los niveles del glutatión en los tejidos y en el transporte de los aminoácidos a través de la membrana celular en los túbulos del riñón y de la pared intestinal.

La enzima es estable (con una pérdida del 0 al 5 %) conservando el suero durante casi 1 año a -20°C ; por 30 días a 6°C ; por 2 días a 24°C y por 1 día a 38°C . La exposición del suero a 65°C por 1 minuto, produce la pérdida total de la actividad en esta enzima.

Según hemos visto, los valores obtenidos en ayunas o después de las comidas, son prácticamente los mismos; la hemólisis del suero perturba en mínimo grado la determinación, dada la escasa cantidad de esta enzima que contienen los eritrocitos. Según Szczeklik y colab. no se encuentra ninguna correlación entre edad del paciente y actividad enzimática.

La enzima se encuentra también elevada en la hepatitis viral aguda, hepatitis colangioliática y en los síndromes obstructivos de las vías biliares. La determinación de esta enzima cobra suma importancia en la búsqueda de neoplasias de hígado primitivas o metastásicas de otros órganos, situación en las que muestra valores sumamente elevados aún en pacientes anictéricos.

Contamos hoy con un amplio conjunto de enzimas para el estudio del infarto de miocardio. Si bien es cierto que ninguna de ellas es órgano específica de la alteración del músculo cardíaco; ello no obstante no les resta de ningún modo el importante papel que juegan en la interpretación de esta afección, siempre y cuando se las contemple junto al cuadro clínico del paciente y se efectúe la valoración crítica del conjunto.

El estudio cronológico de las "enzimas miocárdicas" es de la mayor importancia en la práctica; mucho más

Orden cronológico de las enzimas miocárdicas en el infarto de miocardio

Enzima	Comienza a elevarse	Pico máximo	Normaliza en	Normales
Creatinofosfoquinasa (CFQ)	2 a 4 hs.	18 a 30 hs.	4 a 5 días	M 5-50 mU/ml F 3-30 mU/ml
Transaminasa Oxalacética (T.G.O.)	4 a 6 hs.	24 a 48 hs.	4 a 5 días	8- 40 U/ml
Dehidrogenasa láctico (D.L.)	6 a 12 hs.	30 a 40 hs.	6 a 7 días	100-500 U/ml
Dehidrogenasa alfa hidroxibutírico (α HBD)	24 hs.	72 hs.	10 a 12 días	55-145 U/ml
Gamma glutamil transpeptidasa (γ GT)	5º día	10º día	30 días	M 52 ± 22 U/ml F 35 ± 14 U/ml

por supuesto que el de una determinación aislada; ya que cada una de estas enzimas se eleva, adquiere su pico máximo y se normaliza en el suero, de acuerdo al tiempo de evolución del accidente vascular. De tal modo pues, es el cardiólogo quien deberá precisar la enzima a estudiar en su justo momento, de acuerdo a la fecha en que ha tenido lugar el infarto de miocardio.

La gamma glutamil transpeptidasa permite realizar el diagnóstico de infarto de miocardio cuando se reconoce al paciente tardíamente. Su elevación sería un índice de recuperación del músculo cardíaco, en contraposición con las otras "enzimas miocárdicas" que indican la necrosis.

SUMARIO

Se describe un método colorimétrico para la determinación cuantitativa de la gamma glutamil transpeptidasa en el suero sanguíneo. Las determinaciones efectuadas en 98 personas normales de ambos sexos y cuyas edades oscilaron entre los 16 y los 65 años arrojaron valores de 52 ± 22 unidades por ml para los hombres y de 35 ± 14 unidades por ml para las mujeres. Se estudia el comportamiento de esta enzima en el infarto de miocardio, conjuntamente con la CPQ, T.GOX, DL y fraccionamiento de las isoenzimas, y α HBD. Se remarca la importancia de la determinación de la gamma glutamil transpeptidasa, cuando se reconoce tardíamente al enfermo, ya que esta enzima permanece elevada hasta aproximadamente los 30 días después de la oclusión coronaria.

SUMMARY

A colorimetric method for the quantitative assay of gamma glutamyl Transpeptidase in serum is presented. Determinations in 98 healthy subjects from 16 to 65 years old, yielded mean values of 52 ± 22 unities per ml for males, and 35 ± 14 unities per ml in females. It had been studied the behaviour of the enzyme in the myocardial infarct together with CPK, T.GOX, DL, α HBD and the isozymes of the DL; and point out the importance of the determination of the gamma glutamyl transpeptidase when patients

had been tardy examined. This enzyme remains elevated till nearly 30 days after the arterial occlusion.

BIBLIOGRAFIA

1) Agostini, A.; Ideo, G.; Stabilini, R.: Serum Glutamyl transpeptidase activity in myocardial infarction. *Brit. Heart. J.* 27: 688, 1965.

2. Bratton, A. C.; Marshall, E. K. Jr.: New coupling component for sulfanilamide determinations. *J. Biol. Chem.* 128: 537, 1939.

3. De Duve, C.; Wattiaux, R.; Wibo, M.: Effects of fat-soluble compounds on lysosomes in vitro. *Biochem. Pharmacolog.* 9: 97, 1962.

4. Goldbarg, J. A.; Pineda, E. P.; Smith, E.; Friedman, O. and Rutenburg, A.: A method for the colorimetric determination of gamma glutamyl transpeptidase in human serum: Enzymatic activity in health and disease. *Gastroent.* 44: 127, 1963.

5. Hedworth-Whitty, R. B.; Whitefield, F. B. and Richardson, R. W.: Serum glutamyl transpeptidase activity in myocardial ischemia. *Brit. Heart. J.* 29: 432, 1967.

6. Janoff, A.; Schaefer, S.; Schever, F. and Bean, M.: Mediators of inflammation in leukocyte lysosomes. *J. Exp. Med.* 122: 841, 1965.

7. Orłowski, A. and Szewczuk, A.: Histochemical demonstration of gamma glutamyl transpeptidase. *Nature* 191: 767, 1961.

8. Orłowsky, M. and Szewczuk, A.: Determination of glutamyl transpeptidase activity in human serum and urine. *Clin. Chim. Acta* 7: 755, 1962.

9. Orłowsky, M. and Szewczuk, A.: Note on the occurrence of glutamyl transpeptidase in human serum. *Clin. Chim. Acta* 6: 430, 1960.

10. Revel, J. P. and Ball, E. G.: The reaction of glutathione with amino acids and related compounds as catalyzed by γ glutamyl transpeptidase. *J. Biol. Chem.* 234: 577, 1959.

11. Rutenburg, A. M.; Goldbarg, J. A.; Friedman, O. M.; Smith, E. E. and Pineda, E.: A new method for the colorimetric assay of γ glutamyl transpeptidase. *J. Histochem. Cytochem.* 8: 343, 1960.

12. Rutenburg, A. M.; Goldbarg, J. A. and Pineda, E. P.: Serum γ glutamyl transpeptidase activity in hepatobiliary pancreatic disease. *Gastroenterology.* 45: 43, 1963.

13. Swewczuk, A. and Orłowsky, M.: The use of (N- γ DL- glutamyl) aminonitriles for the colorimetric determination of the specific peptidase in blood serum. *Clin. Chim. Acta* 5: 680, 1960.

14. Szceklik, E.; Orłowski, M. and Szewczuk, A.: Serum γ glutamyl transpeptidase activity in liver disease. *Gastroenterology.* 41: 353, 1961.

15. Villa, L.; Diognardi, W.; Agostini, A.; Ideo, G. and Stabilini, R.: Prognostic value of serum γ glutamyl transpeptidase activity in liver disease. *Enzym. Biol. Clin.* 7: 119, 1966.