

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 14, 1976, pp. 589–594

## Das elektrophoretische Muster der $\gamma$ -Glutamyltransferase im Serum und seine Änderung durch Chylomikronen

Von J. Freise, P. Magerstedt und Ellen Schmidt

Department Innere Medizin, Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie (Prof. Dr. med. F. W. Schmidt)  
Medizinische Hochschule Hannover

(Eingegangen am 14. Juni/7. Oktober 1976)

**Zusammenfassung:** In Seren von 20 Patienten mit erhöhter  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität (EC 2.3.2.2) durch intra- oder posthepatische Cholestase wurde durch Celluloseacetatfolien-Elektrophorese die  $\gamma$ -Glutamyltransferase in vier Banden getrennt. Das  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Muster erlaubte keine Unterscheidung zwischen intra- oder posthepatischer Cholestase. Simultan wurden in jedem Serum eine Protein- und eine Lipidelektrophorese durchgeführt. Es zeigte sich, daß eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande, die in 11 Seren am Auftragspunkt zu sehen war, nur in lipämischen Seren mit Chylomikronen zu finden war. Diese  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande ist jedoch nicht Ausdruck eines echten Isoenzym, da sie nur durch einen Chylomikronen- $\gamma$ -Glutamyltransferase-Komplex hervorgerufen wird, der mit den Chylomikronen abgetrennt oder durch Mischen von Seren hervorgerufen werden kann.

### *The electrophoretic pattern of $\gamma$ -glutamyl transferase in serum and its alteration by chylomicrons*

**Summary:** Using the sera from 20 patients with elevated  $\gamma$ -glutamyl transferase activity (EC 2.3.2.2) due to intra- or posthepatic cholestasis, the enzyme was separated into four bands by cellulose acetate foil electrophoresis. The  $\gamma$ -glutamyl transferase pattern permitted no differentiation between intra- or posthepatic cholestasis.

Protein and lipid electrophoresis was performed simultaneously for each serum. It was found that a  $\gamma$ -glutamyl transferase band, which appeared at the origin in 11 sera, was only observed in lipaemic sera containing chylomicrons. This band of  $\gamma$ -glutamyl transferase does not, however, represent a true isoenzyme, because it results from a complex between chylomicrons and  $\gamma$ -glutamyl transferase, which is separated with the chylomicrons, or is produced by the mixing of sera.

### Einleitung

Die Bestimmung der  $\gamma$ -Glutamyltransferaseaktivität im Serum (EC 2.3.2.2), Erstbeschreibung 1950 durch Hanes (1), hat wegen ihrer Bedeutung in der Differenzierung verschiedener Lebererkrankungen (2–16), zusätzlich zum übrigen Enzymmuster, Eingang in die Diagnostik gefunden. Wenn auch die  $\gamma$ -Glutamyltransferase in fast allen Organen vorhanden ist (in absteigender Reihenfolge: Niere, Pankreas, Leber, Prostata, Dünndarm, Testes, Milz, Lunge, Placenta, Schilddrüse und in geringerem Maße in allen Organen) (6, 17), so konnte in der Regel ein Anstieg der  $\gamma$ -Glutamyltransferase Aktivität im Serum bei Erkrankungen anderer Organe als der Leber nur gefunden werden, wenn es zu einer sekundären Mitbeteiligung der Leber gekommen war.

Kokot & Kuska (18, 19) gelang es 1965 erstmals nachzuweisen, daß es elektrophoretisch trennbare Formen der  $\gamma$ -Glutamyltransferase gibt. Seitdem wurde die Trennung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase in multiple Formen mit Hilfe verschiedener Trägermaterialien mehrfach wiederholt (18–32). Wenn auch die bisher publizierten „Isoenzymmuster“ völlig unterschiedlich und nicht vergleichbar waren, so haben die meisten Autoren doch ihren jeweiligen „Enzymmustern“ eine diagnostische oder prognostische Aussage entnehmen können. Ein Ziel dieser Arbeit war, mit Hilfe einer verbesserten Elektrophorestechnik, die eine densitometrische Auswertung der einzelnen elektrophoretischen Banden erlaubte, eine Möglichkeit zu finden, zwischen intra- und posthepatischer Cholestase zu differenzieren. Voraussetzung wäre hierzu, daß die  $\gamma$ -Glutamyltransferase, die von Leberzellen

stammt, ein anderes elektrophoretisches Muster zeigt als die  $\gamma$ -Glutamyltransferase, die von Gallengangsepithelien stammt. Die Voraussetzung kann leider nicht direkt untersucht werden, da die  $\gamma$ -Glutamyltransferase im Gewebe zu über 90% an Membranen gebunden ist und bei der Zentrifugation eines Gewebehomogenates mit den Membranbestandteilen abzentrifugiert wird.

Ein zweites Ziel dieser Arbeit war, den Einfluß eines veränderten Lipoproteinmusters auf die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophorese zu untersuchen. Ausgangspunkt dieser Fragestellung war die Hypothese, daß die  $\gamma$ -Glutamyltransferase im Serum zum Teil an Serumbestandteile wie z. B. Lipoproteine angelagert sein kann, und so die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden bei der Elektrophorese nicht nur nach der eigenen unterschiedlichen Ladung getrennt werden, sondern ein Lipoprotein- $\gamma$ -Glutamyltransferase-Komplex mit veränderter Ladung zu einer neuen Bande führen kann.

Wir führten in 20, zum Teil lipämischen Seren mit erheblich erhöhter  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität parallel eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-, eine Lipoprotein- und eine Proteinelektrophorese durch. Ursache der erhöhten  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität waren Lebermetastasen, Gallengangsverschlüsse durch Tumoren oder Steine, Pankreas-kopftumoren, Alkoholismus mit unterschiedlicher Leberbeteiligung, Gelbsucht durch Medikamentennebenwirkung und primäre, biliäre Cirrhosen.

## Methoden

### $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophorese

#### Material und Lösungen

1. Diethylbarbitursäure-Trispuffer: 50 mmol/l Natriumdiethylbarbiturat, 10 mmol/l Diethylbarbitursäure und 60 mmol/l Tris, pH 8,4.
2. Celluloseacetatstreifen: 25,5 mm  $\times$  14,5 mm von Boskamp.
3. Tris-Glycylglycinpuffer: 100 mmol/l Tris, 50 mmol/l Glycylglycin mit 1,5 mmol/l NaOH auf pH 10 eingestellt.
4. Substratlösung: 3,67 mmol/l  $\gamma$ -L-Glutamyl- $\alpha$ -naphthylamid (Koch-Light) in Tris-Glycylglycinpuffer lösen. Anschließend 70 mg Agar in 10 ml Substratlösung bei 56 °C lösen.
5. Färbelösung: 5 mg Fast Blue B (Sigma) in 10 ml 1,33 mol/l Essigsäure lösen. Schließlich 70 mg Agar in 10 ml Färbelösung bei 56 °C lösen.

Die Ausführung erfolgte in Anlehnung an eine Methode nach Patel (30), die von uns modifiziert wurde.

Mit einer Hamilton-Spritze wurden 1–5  $\mu$ l Serum auf einen Celluloseacetatstreifen aufgetragen und die Elektrophorese über zwei Stunden bei 140 V durchgeführt. Anschließend wurde auf den Celluloseacetatstreifen eine 2 mm dicke Substrat-Agarschicht (Lösung 4) aufgebracht. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei 37 °C im Dunkeln wurde die Agarschicht abgespült und die zweite Agarschicht mit Fast Blue B (Lösung 5) auf die Celluloseacetatstreifen pipettiert. Nach einer 30minütigen Inkubationszeit erfolgte eine densitometrische Auswertung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivitätsbanden bei 546 nm.

### Proteinelektrophorese

Methode nach Kohn auf Acetatfolie (33). Färbung mit Amidoschwarz.

### Lipoproteinelektrophorese

Methode nach Greten et al. (34) auf Rinderalbumin-Agarosegel und Färbung mit Sudanschwarz B.

### $\gamma$ -Glutamyltransferase

Monotest  $\gamma$ -Glutamyltransferase, Boehringer Mannheim, Testkombination Nr. 15 885. Methode nach Szasz (35).

### Bilirubin

Boehringer Testkombination Nr. 15 724. Methode nach Jendrassik et al. (36).

### Cholesterin

Boehringer Testkombination Nr. 15 738. Methode nach Roeschlau et al. (37).

### Triglyceride

Boehringer Testkombination Nr. 15 989. Methode nach Eggstein et al. (38).

### Lipoprotein X

Rapidophor, Testkombination von Immuno GmbH, Heidelberg.

## Ergebnisse

In allen 20 Seren war bei der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophorese ein Aktivitätsbereich zwischen Albumin/ $\alpha_1$ -Globulin und  $\beta$ -Globulin zu finden. In diesem Bereich ließen sich densitometrisch bis zu 3 Banden trennen. Bei 11 Seren fand sich zusätzlich eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt, bei 9 Seren nicht. Eine Korrelation der prozentualen Verteilung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase auf die einzelnen Banden zu den zugrunde liegenden Krankheiten, bzw. zur intra- oder posthepatischen Cholestase ließ sich nicht erkennen. In Abbildung 1 ist bei 2 Beispielen die Lage der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden zu den Proteinfractionen und den Lipoproteinfrac-tionen dargestellt. Die Auswertung aller 20 Seren ergab, daß in 11 Fällen, bei denen sich eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt gezeigt hatte, eine Lipidbande ebenfalls zu sehen war, die bei normalen Seren hier nicht vorhanden ist (Tab. 1, Spalte 2 und 3). Bei 2 Seren war am Auftragspunkt eine kleine Lipoproteinbande und keine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande zu finden. Verdünnungen der Seren mit 9 g/l NaCl-Lösung ergab keine Änderung der Ergebnisse.

Es ist möglich, lipämische Seren mit Heparin und  $MgCl_2$  zu klären (39). Hierbei lagern sich die Chylomikronen in einer lipämischen Schicht auf dem geklärten Serum ab. Wir haben in geklärten Seren und den jeweiligen lipämischen Überständen nochmals eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase- und eine Lipoproteinelektrophorese durchge-

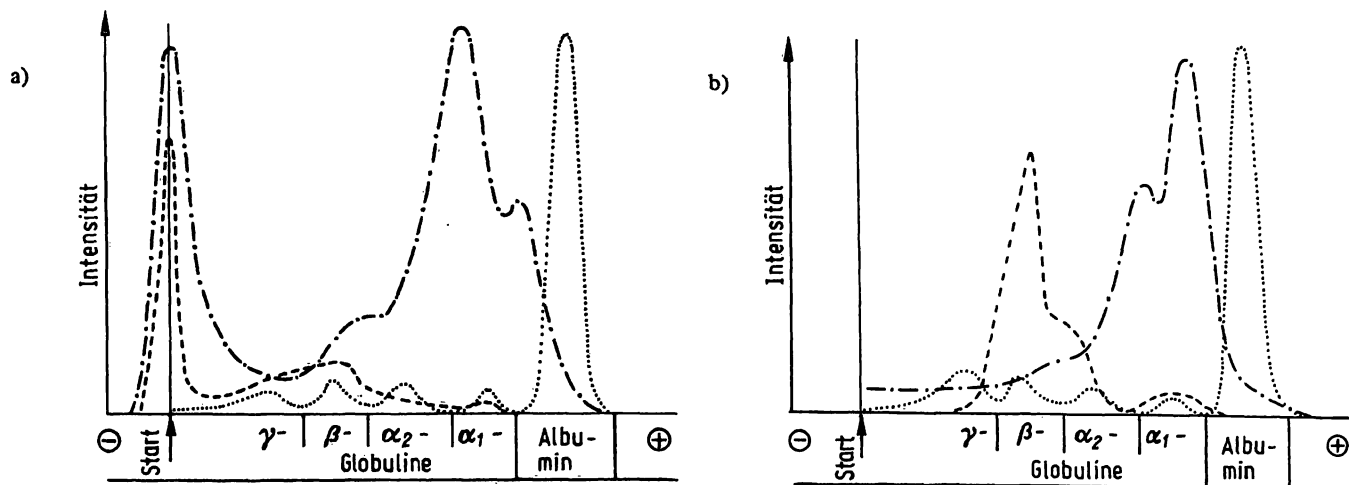


Abb. 1. Densitogramme der  $\gamma$ -Glutamyltransferase- (---), Protein- (.....) und Lipid- (----) electrophorese. a) mit  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt. b) ohne  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt.

Tab. 1 und 2: Synoptische Darstellung der untersuchten Parameter wie Chylomikronen,  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität, LP-X, HDL, Cholesterin, Triglyceride, Bilirubin, bei Seren mit einer  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt (Tab. 1) und Seren ohne  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt (Tab. 2).

Gruppe A

Patient	$\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt	Chylomikronen	$\gamma$ -Glutamyltransferase [U/l]	LP-X	HDL	Cholesterin [mmol/l]	Triglyceride [mmol/l]	Bilirubin [mmol/l]
P. He.	+	+	431	-	+	7.1	1.5	97
K. Wi.	+	+	202	+	-	6.6	3.3	110
E. I.	+	+	1300	+	+	8.4	3.6	141
M. H.	+	+	575	+	+	8.8	2.2	31
K. E.	+	+	1242	+	-	10.3	3.5	182
W. I.	+	+	789	+	+	5.7	4.5	104
K. Wa.	+	+	489	-	-	11.0	5.6	291
K. T.	+	+	356	-	+	7.5	3.9	10
P. M.	+	+	909	+	-	16.4	2.3	164
D. J.	+	+	606	-	-	16.3	2.3	249
P. Hi.	+	+	900	+	-	14.4	5.4	11
			$\bar{x}$ 709			$\bar{x}$ 10.2	$\bar{x}$ 3.5	$\bar{x}$ 126
			Sx 354			Sx 3.8	Sx 1.3	Sx 92
			S $\bar{x}$ 107			S $\bar{x}$ 1.2	S $\bar{x}$ 0.4	S $\bar{x}$ 28
			n 11			n 11	n 11	n 11

Gruppe B

Patient	$\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt	Chylomikronen	$\gamma$ -Glutamyltransferase [U/l]	LP-X	HDL	Cholesterin [mmol/l]	Triglyceride [mmol/l]	Bilirubin [mmol/l]
A. J.	-	-	386	-	+	5.8	2.2	22
H. E.	-	-	1040	-	+	3.2	1.0	6
D. H.	-	-	140	-	+	3.9	1.0	29
R. W.	-	-	1361	-	+	6.9	1.6	17
S. W.	-	-	661	+	+	5.9	1.6	119
C. H.	-	-	349	-	-	1.5	1.2	40
S. E.	-	(+)	951	+	+	5.0	2.7	18
C. H.	-	(+)	238	+	+	4.9	3.5	133
M. H.	-	-	575	+	-	4.9	3.5	133
			$\bar{x}$ 633			$\bar{x}$ 4.4	$\bar{x}$ 1.8	$\bar{x}$ 43
			Sx 409			Sx 1.8	Sx 0.8	Sx 48
			S $\bar{x}$ 136			S $\bar{x}$ 0.6	S $\bar{x}$ 0.3	S $\bar{x}$ 16
			n 9			n 9	n 9	n 9

führt. Es zeigte sich, daß im geklärten Serum die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt im Gegensatz zum lipämischen Nativserum fehlte (Abb. 2). Im lipämischen Überstand war die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt ausgeprägter.

In einem weiteren Versuch wurde ein nicht lipämisches Serum ( $\gamma$ -Glutamyltransferase 941 U/l, keine Chylomikronen) mit einem Serum niedriger  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität (25 U/l, Elektrophorese hier wegen zu niedriger Enzymaktivität nicht möglich, aber mit Chylomikronen) gemischt und bei der Elektrophorese dieses Mischserums ergab sich eine  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt, siehe Abbildung 3.

Tabelle 1 (Gruppe A) zeigt bei Seren mit einer  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt synoptisch folgende untersuchten Parameter:  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität im Serum, Nachweis von Chylomikronen, LP-X und High Density Lipoprotein, Cholesterin-, Triglyceride- und Bilirubinkonzentrationen im Serum.

Tabelle 2 zeigt dieselben Parameter bei fehlender  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt (Gruppe B). Die mittlere  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität unterscheidet sich mit 709 U/l und 633 U/l nicht wesentlich in den beiden Gruppen. Das Auftreten von LP-X und HDL ist auf beide Gruppen verteilt. Cholesterin, Triglyceride und Bilirubin unterscheiden sich in beiden Gruppen jedoch erheblich. In Gruppe A sind die Serumkonzentrationen von Cholesterin mit 10,2 mmol/l, Triglyceride mit 3,5 mmol/l und Bilirubin mit 126  $\mu$ mol/l doppelt so hoch wie in Gruppe B (Cholesterin 4,4 mmol/l, Triglyceride 1,8 mmol/l und Bilirubin 43  $\mu$ mol/l).

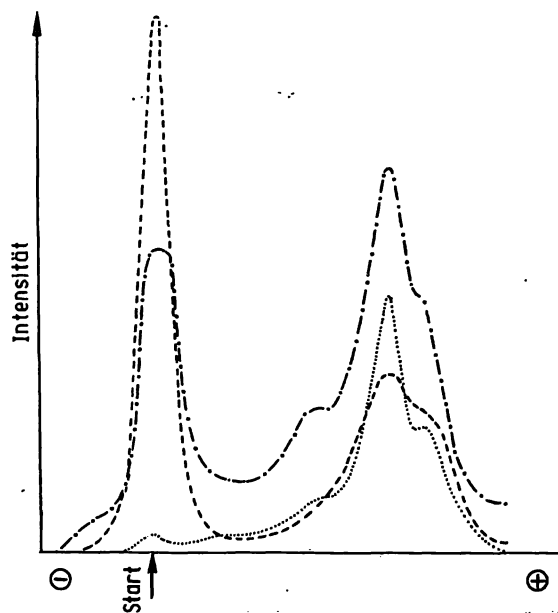


Abb. 2.  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophorese im lipämischen Serum (---), im mit Heparin und  $MgCl_2$  „geklärten“ Serum (.....) und im lipämischen Überstand (-.-.-).

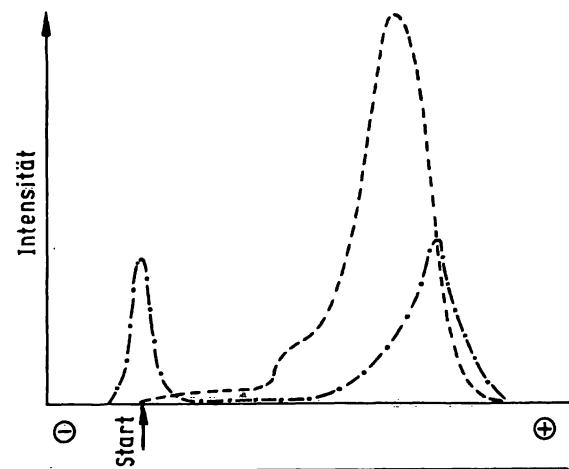


Abb. 3.  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophorese in einem nicht lipämischen Serum ohne  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt (Serum A, ---) und einem Mischserum aus Serum A und einem lipämischen Serum B ohne erhöhte  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität (-.-.-).

### Diskussion

Die von Patel (30) beschriebene Methode der elektrophoretischen Auftrennung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase in multiple Banden auf Cellogelstreifen haben wir sowohl in der Wahl des Substrates als auch in der Methode der Durchführung geändert. Das von der  $\gamma$ -Glutamyltransferase freigesetzte  $\alpha$ -Naphthylamid, das bei der Diazotierung mit Fast Blue B eine blaurote Farbe ergibt, verläuft wegen mangelnder Haftung an den Celluloseacetatstreifen während der zweimaligen Inkubation in der Substratlösung und im Färbebad sehr leicht. Erst nachdem sowohl das Substrat als auch Fast Blue B in Agar gelöst zur jeweiligen Reaktion auf den Celluloseacetatstreifen gebracht war, waren die Banden scharf getrennt, farbintensiv und zur densitometrischen Auswertung bei 546 nm geeignet. Eine densitometrische Auswertung der einzelnen  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden war bei einer Aktivität der  $\gamma$ -Glutamyltransferase im Serum unter 150 U/l nicht möglich.

Unsere Ergebnisse stimmen mit den bisherigen Publikationen (18–32) darin überein, daß im Bereich von Albumin/ $\alpha_1$ -Globulin bis  $\beta$ -Globuline jede Arbeitsgruppe  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität gefunden hat. Die Gesamtzahl der gefundenen Banden in diesem Bereich (zwischen 1 und 7) schwankt jedoch. Alle Autoren berichten zudem, daß teilweise  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden am Auftragspunkt und vereinzelt im Bereich der Albumine zu sehen waren. Alle Autoren bis auf Kokot & Kuska (18) glaubten, ihren Elektrophoresemustern der  $\gamma$ -Glutamyltransferase diagnostische oder prognostische Hinweise entnehmen zu können. Nach Auswertung unserer 20  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Elektrophoresemuster ergibt sich hier kein Hinweis zur Unterscheidung zwischen einer intra- und extrahepa-

tischen Cholestase. Unsere Versuche geben jedoch zur zweiten Fragestellung, ob es sich bei den multiplen Banden der  $\gamma$ -Glutamyltransferase um echte Isoenzyme handelt, den Hinweis, daß die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt wahrscheinlich nicht Ausdruck eines echten Isoenzymes ist, sondern ein Chylomikronen- $\gamma$ -Glutamyltransferase-Komplex ist, der in vitro durch Mischen von Seren hervorgerufen werden kann, oder beim Klären von Seren in den lipämischen Überstand überführt wird. Die den Tabellen 1 und 2 zu entnehmende Aussage, daß Chylomikronen ursächlich für das Auftreten einer  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt verantwortlich sind, wird durch die Tatsache unterstützt, daß beim Klären des Serums nicht nur die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande am Auftragspunkt im klaren Serum fehlt und im fettreichen Überstand ausgeprägter ist, sondern daß im geklärten Serum ohne Chylomikronen auch die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität erheblich niedriger ist, als im lipämischen Serum, z. B.  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität im lipämischen Serum 1150 U/l, im geklärten Serum 748 U/l, im fettreichen Überstand 1980 U/l.

Das Klären von lipämischen Seren mit Heparin und  $MgCl_2$  zur Aktivitätsbestimmung von Enzymen mit niedriger Aktivität, wie z. B. der Glutamat-Dehydrogenase (EC 1.4.1.3), ist eine verbreitete Methode (39). Nach Lambrecht (40) kommt es hierbei nicht zu einer Beeinflussung der Aktivitäten von Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Creatin-Kinase (EC 2.7.3.2), Leucinaminopeptidase (EC 3.4.11.1), alkalischer Phosphatase (EC 3.1.3.1),  $\gamma$ -Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2),

Glutamat-Oxalat-Transaminase (EC 2.6.1.1) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (EC 2.6.1.2).

Diese Aussage gilt nach unseren Ergebnissen jedoch nicht für die  $\gamma$ -Glutamyltransferase. Im geklärten Serum ist die  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität niedriger als im lipämischen Serum. Ob die anderen drei  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden zwischen Albumin/ $\alpha_1$ -Globulin und  $\beta$ -Globulin Ausdruck echter Isoenzyme sind, ist durch unsere bisherigen Untersuchungen nicht zu beantworten.

Auch Hinweise auf einen möglichen  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Träger in diesem Bereich können wir aus der Protein- oder Lipidelektrophorese nicht entnehmen. Gerade in dem Bereich, in dem die ausgeprägte  $\gamma$ -Glutamyl-Bande liegt, zwischen Albumin und  $\alpha_2$ -Globulin, ist prozentual nur ein geringer Protein- ( $\alpha_1$ -Globulin) und Lipidanteil (HDL) vorhanden, wobei HDL in 8 Fällen, wie es als Ausdruck einer schweren Lebererkrankung häufig vorkommt (37), gar nicht nachzuweisen war.

Die Veränderungen dieser drei  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Banden, die durch Klären eines Serums eintraten, waren inkonstant und nicht zu einer fundierten Aussage geeignet, wie es bei der  $\gamma$ -Glutamyltransferase-Bande und den Chylomikronen am Auftragspunkt möglich ist.

Nach den Ergebnissen unserer Arbeit sollte der Begriff „ $\gamma$ -Glutamyltransferase-Isoenzyme im Serum“ nur mit Vorbehalt verwandt werden, und durch den Begriff „Multiple Formen der  $\gamma$ -Glutamyltransferase“ ersetzt werden, da die elektrophoretisch gewonnenen Banden der  $\gamma$ -Glutamyltransferase sicherlich nicht nur Ausdruck von echten, definierten Isoenzymen sind.

## Literatur

- Hanes, C. S., Hirth, F. J. R. & Isherwood, F. A. (1950), *Nature* 166, 288–292.
- Rosalki, S. B., Rau, D., Lehman, D. & Prentice, M. (1970), *Ann. Clin. Biochem.* 7, 143–147.
- Orlowski, M., Meister, A. (1963), *Biochim. Biophys. Acta* 73, 679.
- Szász, G., Rosenthal, P., Fritsche, W. (1969), *Schweiz. Med. Wochenschr.* 99, 606–608.
- Rutenburg, A., Goldbarg, J. A. & Pineda, E. P. (1963), *Gastroenterology* 45, 43–48.
- Szczeklik, E., Orlowski, M. & Szewczuk, A. (1961), *Gastroenterology* 41, 353–359.
- Rosalki, S. B. & Rau, D. (1972), *Clin. Chim. Acta* 39, 41–47.
- Rollason, J. G., Pincherle, D. & Robinson, D. (1972), *Clin. Chim. Acta* 39, 75–80.
- Zein, M. & Discombe, G. (1970), *Lancet* II, 748–750.
- Schmidt, E. (1975), *Dtsch. Med. Wochenschr.* 100, 443–444.
- Villa, L., Dioguardi, N., Agostoni, A., Ideo, A. & Stabilini, R. (1966), *Enzym. Biol. Clin.* 7, 109–114.
- Ideo, G., Morganti, A. & Dioguardi, N. (1972), *Digestion* 5, 326–336.
- Kontinen, A., Hupli, V. & Salmenkivi, K. (1971), *Acta Med. Scand.* 189, 529–535.
- Szász, G., Rosenthal, P. & Fritsche, W. (1969), *Dtsch. Med. Wochenschr.* 94, 1911–1917.
- Szczeklik, E., Lukasik, S., Orlowski, M. & Swiderska, T. (1965), *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 13, 573–579.
- Jacobs, W. L. W. (1972), *Clin. Chim. Acta* 38, 419–434.
- Goldbarg, J. A., Friedman, O. M., Pineda, E. P., Rutenburg, A. M., Smith, E. E., Chatterji, R. & Stein, E. R. (1960), *Arch. Biochem. Biophys.* 91, 61–70.
- Kokot, F. & Kuska, J. (1965), *Clin. Chim. Acta* 11, 118–121.
- Kokot, F., Kuska, J. & Grzybek, H. (1965), *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 13, 549–556.
- Orlowski, M., Szczeklik, A. & Kolaczowska, B. (1965), *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 13, 564–572.
- Orlowski, M. & Szczeklik, A. (1967), *Clin. Chim. Acta* 15, 387–391.
- Rutenburg, A. M., Smith, E. E. & Fischbein, J. W. (1967), *J. Lab. Clin. Med.* 69, 504–517.
- Kazimierz, J. & Laursen, T. (1972), *Clin. Chim. Acta* 19, 345–352.
- Kokot, F. & Kuska, J. (1968), *Enzym. Biol. Clin.* 9, 59–67.
- Kuska, J. & Kokot, F. (1970), *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 18, 185–189.
- Azzopardi, O. & Jayle, M. F. (1973), *Clin. Chim. Acta* 43, 163–169.

27. Ideo, G. & Ronchi, G., (1972), *diese Z.* 10, 211–214.
28. Miyazaki, S. & Okumura, M. (1972), *Clin. Chim. Acta* 40, 193–197.
29. Bruch, E. I., Domecq, R. & Findor, J. (1973), *Klin. Wochenschr.* 51, 272–274.
30. Patel, S. & O'Gorman, P. (1973), *Clin. Chim. Acta* 49, 11–17.
31. Rosalki, S. B. & Rau, D. (1973 pp), *Proc. Int. Colloq.  $\gamma$ -Glutamyltransferase*, 139–150.
32. Jones, D. D., Williams, G. & Prochazka, B. (1974), *Enzyme* 17, 139–145.
33. Kohn, J. (1964), *Ärztl. Labor* 10, 269–278.
34. Greten, H., Seidel, D., Walter, B. & Kolbe, J. (1970), *Dtsch. Med. Wochenschr.* 95, 1720.
35. Szasz, G. (1969), *Clin. Chem.* 15, 124–136.
36. Jendrassik, L. & Grof, P. (1938), *Biochem. Z.* 297, 81–89.
37. Röschlau, P., Bernt, E. & Gruber, W. (1974), *diese Z.* 12, 403–440.
38. Eggstein, M. (1966), *Klin. Wochenschr.* 44, 267–273.
39. Glomset, J. A. & Wright, J. L. (1964), *Biochim. Biophys. Acta* 89, 266–276.
40. Lambrecht, J. & Seidel, D. (1974), *diese Z.* 12, 154–158.

Dr. med. J. Freise,  
Abt. f. Gastroenterologie u.  
Hepatology, Med. Dept.  
Med. Hochschule Hannover  
Postfach 610 180  
D-3000 Hannover 61