

## 血清 Alanine Aminotransferase 와 Alkaline Phosphatase 의 活性에 대한 饑餓 및 人蔘의 効果\*

嶺南大學校 醫科大學 神經科學教室

邊 永 宙

慶北大學校 醫科大學 生化學教室

曹 準 承

啓明大學校 醫科大學 生化學教室

郭 春 植

### =Abstract=

### Effect of Starvation and Ginseng on Serum Alanine Aminotransferase and Alkaline Phosphatase Activity

Young Joo Byun

Department of Neurology, Yeungnam University  
School of Medicine, Taegu, Korea

Joon Seung Jo

Department of Biochemistry, Kyungpook National University  
School of Medicine, Taegu, Korea

Chun Sik Kwak

Department of Biochemistry, Keimyung University  
School of Medicine, Taegu, Korea

Changes in serum alanine aminotransferase and alkaline phosphatase activities were studied in Sprague-Dawley rats by starvation and ginseng.

In starved rats, body weight were decreased in rate by 10% a day and weight decrease was not affected by ginseng administration.

Serum alanine aminotransferase activities were decreased by starvation and revealed 60% decrease on the third day of starvation. Ginseng administration significantly inhibited this decrease of enzyme activity produced by starvation, while serum alkaline phosphatase revealed no noticeable changes by starvation, and ginseng administration.

\* 본 논문은 1984년도 계명대학교 동산의료원 임상연구 보조비로 이루어졌음.

## 緒 論

사람 및 動物을 長期間 餓餓狀態로 維持시켰을 때의 體內의 代謝樣相의 變化에 관해서는 1915년 Benedict의 古典的 研究<sup>1)</sup> 以來 오늘날까지 많은 研究가 이루어지고 있다<sup>2-10)</sup>. 餓餓時筋肉에서 的 蛋白質의 分解가亢進되어 아미노酸이 多이 動員되고, 脂肪組織에서 的 脂質分解가促進되어 遊離脂肪酸의 動員이 증가되며, 肝이나 腎臟에서 的 糖新生作用(gluconeogenesis)이旺盛해져一定한 水準의 血糖值를維持하되 腦에一定하게 糖質을 供給시킨다. 한편 肝에서的 脂肪酸으로부터 ketone體를生成하여 他組織으로 供給해서于先의으로燃燒시킴으로써 糖質과蛋白質의消耗를 아끼는 것으로 보고 있으며 이와 같은 代謝系의 調節酵素들은 餓餓時 그活性이增加된다고 한다<sup>11)</sup>. 그리고 이것이에關與하는 hormone인 insulin은 그 血中濃度가減少되고 反對로 glucagon은增加된다고 한다<sup>12)</sup>. 따라서 餓餓는 體內의 酵素活性에 分明히 어떤 影響을 미칠 것으로 믿어진다. 著者は 쥐를 使用하여 絶食시켜면서 肝機能検査法으로서 널리 利用되고 있는 肝實質細胞性酵素인 血清 alanine aminotransferase<sup>13,14)</sup> (E.C. 2.6.1.2)와 所謂 膽道系酵素인 血清 alkaline phosphatase<sup>15,16)</sup> (E.C. 3.1.3.1)의活性이 어떻게 變動하는가를 調査해 보았다.

한편 人蔘(Panax C. A. Meyer)은 그 主產地가 우리나라를 위시하여 滿洲의一部와 黑龍江附近의 北向山林에 野生하는 多年生宿根草로서 오랜 옛날부터 高貴한 補血強壯劑로서 民間 또는 漢方藥材로서 사용되었다. 그리고 近來에 와서 人蔘에 대한 藥効成分의 分離와 그 効能에 관해서 現代科學의 見地에서 많은 研究가 報告되어 있다<sup>17-23)</sup>. 그러나 人蔘의 藥効는 大體로 認定되고 있으나 아직 그 藥効成分의 真髓라든지 藥効를 나타내는 機轉에 대해서는 完全히 밝혀져 있지 않는 實情이다. 朴 및 曺<sup>24)</sup>, 李 및 曹<sup>25)</sup>, 金 및 曹<sup>26)</sup>, 郭 및 曹<sup>27)</sup>등은 人蔘의 作用이 生體內에서의 物質代謝를 生體의 恒常性을維持하는 方向으로 調節하는 것 같다고 報告한 바 있으며, 이러한 人蔘의 效果는 酵素活性에도 그 影響을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 著者は 餓餓時에 人蔘投與與否가 이를 血清酵素活性에 어떠한 效果를 미치는가를 調査하여 그 結果를 報告하고자 한다.

## 材料 및 方法

**動物 및 處置:**動物은 第一飼料工業株式會社의 飼料로써 4주이상 같은 조건으로 사육한 體重 약 250g 되는 Sprague-Dawley종의 雄性쥐를 사용하였다. 1群을 10마리로하여 生理的食鹽水를 투여한 對照群 1群, 人蔘抽出物을 투여한 對照群 1群, 絶食시키면서 1日 1回, 生理的食鹽水를 투여하고 1日, 2日, 3日, 4日에 죽인群 總 4群, 絶食시키면서 1日 1回 人蔘抽出物을 투여하고 1日, 2日, 3日, 4日에 죽인群 總 4群 등으로 나누어 실험에 사용하였다. 對照群에서의 生理的食鹽水의 투여는 體重 100g 당 0.5ml의 죽이기 12時間前에 腹腔内에 注射하였고 人蔘抽出物을 투여한 對照群은 人蔘抽出物을 體重 100g 당 5mg을 0.5ml의 生理的食鹽水에 녹이서 역시 腹腔内로 注射하였다. 그리고 絶食群과 絶食을 시키면서 人蔘抽出物을 투여한 群에서의 生理的食鹽水 또는 人蔘抽出物의 투여는 對照群에서와 같은 方法으로 죽이기 전 12時間에 각각 투여하였다. 血液의 採取는 ether 麻醉下에서 腹大動脈으로부터 採血하였으며 採血한 血液은 遠深分離하여 血清을 얻고 그 酵素活性測定에 提供하였다. 人蔘成分의抽出은 錦山產 4年根 白蔘을 가루로 만들어서 10倍量의 methanol을 加하여 24時間 低温抽出을 하고 ether를 加하여 生건沈澱物을 分離해서 물에 녹이고 그 上清液을 冷凍乾燥시켰다. 이렇게 해서 얻은 黃白色의 人蔘抽出物을 冷藏庫에 保管하면서 使用量만큼 달아서 使用하였다.

**酵素活性測定:** Alanine aminotransferase의 测定은 alanine과  $\alpha$ -ketoglutarate를 基質로하여 酵素反應으로써 生成되는 pyruvate를 2,4-dinitrophenylhydrazine과 反應시켜 生成된 hydrazone을 alkali를 加하여 發色시켜 定量하는 Reitman-Frankel法<sup>28)</sup>을 應用한 Sigma社(美國 St. Louis市所在)의 kit試藥에 의하였다. 그리고 血清 alkaline phosphatase의活性度測定은 p-nitrophenylphosphate를 基質로 하여 反應시켜 遊離되는 p-nitrophenol을 alkali와 作用시켜 發色되는 黃色을 测定하는 Bessey-Lowry法<sup>29)</sup>으로써 测定하였다.

## 成 績

體重이 約 250g 되는 쥐를 4日間 絶食시키는 동안의 體重變動은 圖 1과 같이 人蔘을 投與한 群이나

Table 1. Daily variation of serum alanine aminotransferase activity after starve in rats treated with and without Ginseng extract

Groups \ Day(s)	0	1	2	3	4
Alanine aminotransferase (Reitmann-Frankel unit)					
Saline	24.2±3.6	23.7±4.4	21.5±4.1	10.4±2.6	9.9±2.8
Ginseng	25.8±4.2	22.8±5.2	23.3±3.8	14.2±3.1	15.2±4.4

The data are expressed as mean±standard deviation with 10 rats in each group. 5mg per 100g body weight of ginseng extract in 0.5ml saline solution was administered daily to the ginseng group for 4 days and the saline group was administered the same amount of saline solution.

Table 2. Daily variation of serum alkaline phosphatase after starve in rats treated with and without Ginseng extract

Groups \ Day(s)	0	1	2	3	4
Alkaline phosphatase (Bessey unit)					
Saline	3.8±0.67	4.1±0.71	4.1±0.59	3.9±0.60	4.2±0.70
Ginseng	4.0±0.53	4.2±0.65	4.3±0.63	4.0±0.69	4.0±0.58

The data are expressed as mean±standard deviation with 10 rats in each groups. Ginseng extract was administered to the ginseng group by the same procedure as described in table 1.

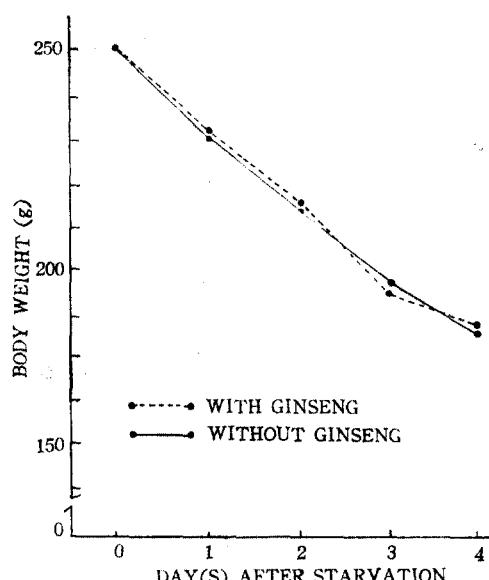


Fig. 1. Decrease in body weight of starved rats treated with and without ginseng extract

投與하지 않는 群이 다같이 別다른 差異없이 하루에 約 10% 쯤 거의 直線의 으로 體重減少를 보였다. 즉 絶食狀態의 動物은 體內物質을 소모하여 에너지를 얻고 있으며, 人蔘은 過食으로 인한 體重減少에 別 다른 効能이 없었다. 絶食後 血清 alanine amino-

transferase 的 活性度의 變化는 表 1과 같이 2日째 까지는 若干 減少傾向을 보이다가 3日째에는 急激히 減少되어 對照群에 比해 5분의 2의 낮은치를 보였으며 4日째에도 비슷한 낮은치를 유지하였다. 그리고 人蔘投與群에서도 絶食으로 因하여 酵素치가 3日째에는 험저히 減少되었으나 人蔘을 投與하지 않는 群보다는 그 減少가 심하지 않았다. 即 人蔘은 絶食으로 因한 血清 alanine aminotransferase 的 減少를 약간 저지하는 効果를 보였다.

血清 alkaline phosphatase 的 活性은 表 2와 같이 絶食後 4日까지 別다른 變動을 나타내지 않았으며 따라서 人蔘을 投與한 群도 마찬가지로 아무런 變動을 나타내지 않았다. 即 血清 alkaline phosphatase 는 鐵餓狀態를 維持시키거나 이에 人蔘을 投與해도 影響을 받지 않는다고 하겠다.

## 考 察

本研究의 結果에 의하면 血清 alanine aminotransferase 的 活性은 鐵餓로 因하여 變動되며 絶食 3日에는 5분의 2로 急低下되었으나 血清 alkaline phosphatase는 別로 變化되지 않았다. 血清 alanine aminotransferase는 肝實質細胞의 損傷時에 劇的으로 그 血中活性이增加되므로 肝機能検査法의 하나로서 널리 사용되고 있는 酵素이며 alanine을 pyruvate로 轉換시킴으로써 amino酸으로부터

glucose 를 合成하는 糖新生作用에 關與하는 一種의 榮養酵素라고도 할 수 있다. 이 酵素은 筋肉에서 主로 내보내는 alanine 을 肝이 摄取하여 이것을 다시 glucose 로 만들어서 肝外 組織으로 내보내고 筋肉에서는 glucose 를 摄取해서 利用하고 形成된 pyruvate 를 alanine 으로 만들어 肝으로 보내는 소위 glucose-alanine cycle<sup>30-32)</sup>에 큰 역할을 담당하고 있다고 하겠다. Felig<sup>30)</sup>등은 사람에 있어 空腹時에는 더욱 많은 alanine 이 筋肉으로부터 나오며 이것의 60~70%는 glucose로부터 誘導된 pyruvate로부터 由來되고 나머지는 筋肉蛋白質의 分解와 다른 amino 酸으로부터 轉換된 것이라고 하였다. 그리고 筋肉에서는 分枝形 amino 酸(valine, leucine, isoleucine)들은 잘 分解되며, 遊離되는 amino 基는 alanine 合成을 위한 장소의 主供給源이 된다고 한다. 또한 絶食中에는 筋肉으로부터 alanine 的 流出量이 增加되고 肝에 多量으로 摄取되어 絶食 72 時間째에는 肝內 alanine 的 含量이 食後 12時間째 보다 50%나 增加되었다는 報告<sup>33, 34)</sup>가 있으나 이때 血清 alanine aminotransferase 的 活性度變化에 대해서는 別로 報告된 바는 없다. 그러나 이 酵素도 榮養狀態에 따라 그活性이 變化될 것으로 믿어진다.

血中に 存在하는 非機能性 酵素의 量的 變動은 大體로 그酵素가 주로 存在하는 組織中에서의 量的 變化와 平行한다고 볼 수 있다. 따라서 本研究에서와 같이 絶食으로 因하여 血清의 alanine aminotransferase 的 活性 低下는 組織中에서 이酵素의 生成이 減少된다고 하겠다. 이것은 絶食狀態에서는 蛋白質의 合成보다도 오히려 分解쪽으로 기울어서 에너지源으로 利用해야 하기 때문에 細胞質內에서는 酵素蛋白을 包含해서 모든 蛋白質의 合成이 減少될 것이며, 또한 絶食狀態가 심해질수록 榮養物質의 代謝도 멀 活潑해짐으로써 이에 關與하는 酵素의 必要性이 적어져 나아가서 酵素의 減少가 招來되는 것으로 본다. 그러나 이러한 酵素의 減少는 本研究에서 人蔘을 投與함으로써 상당히 泄止되었다. 即 人蔘이 絶食으로 惹起되는 酵素의活性低下를 泄止하여 個體의 代謝活動을 正常으로維持하려는 方向으로 作用한다고 할 수 있다.

한편 血清 alkaline phosphatase 的 活性은 血清 alanine aminotransferase 와는 달리 쥐를 4日間 絶食시켜도 低下되지 않았으며 따라서 人蔘을 投與하여도 別다른 영향을 미치지 않았다. Alkaline phosphatase 는 磷酸 monoester 를 基質로 하는 非

特異의인 水解酵素群(orthophosphoric monoester phosphohydrolase) 中에서 알칼리性에 最適 pH를 가진 酵素로서 動植物界에 널리 分布되어 있다고 하며 이의 性狀과 機能에 대해서는 잘 알려져 있다<sup>35)</sup>. 즉 이 酵素는 1929年에 Kay<sup>36)</sup>에 의해 骨疾患에, 다음해에는 Roberts<sup>37)</sup>에 의해 肝疾患에 血清中 그活性이 增加된다고 報告된 以來 臨床的으로 널리 利用하게 되었으며 特히 이酵素는 所謂 膽道系 酵素로서 膽道閉塞 時에 敏感하게 反應하여 血中增加를 나타내는 酵素이다<sup>38-40)</sup>. 最近에는 電氣泳動法에 의해서 alkaline phosphatase로부터 몇種類의 isozyme을 分離하게 되었고 特히 1963年에 Fishman 등<sup>41)</sup>에 의해서 L-phenylalanine에 特異의 으로 泄害받는 小腸性型 alkaline phosphatase 와 Neale 등<sup>42)</sup>에 의해서 耐熱性을 利用한 胎盤性 alkaline phosphatase의 同定法이 發表됨으로써 사람의 血清 alkaline phosphatase의 isozyme測定은 그 臨床的意義가 밝혀지게 까지 進展되었다. 李 및 曹<sup>43)</sup>는 쥐의 正常 血清中에는 肝性 alkaline phosphatase 와 小腸性 alkaline phosphatase의 두 isozyme이 있으며, 그比率은 約 3對 7로서 小腸性의 것이 많다고 하였다. 그리고 膽管結紮時에는 이肝性 isozyme이 顯著하게 增加되었다고 한다. Alkaline phosphatase의 이러한活性增加는 膽道閉鎖으로 탈미암아 그排泄이 障碍되는 原因도 있지만 肝에서의 酵素合成이亢進된結果라고 보고 있다<sup>43-46)</sup>. 이와 같이 이酵素는 膽道閉鎖에 그活性이 敏感하게 增加되므로 闭鎖性黃疸 診斷에 널리 쓰여지고 있으나 이酵素作用의 生理生化學의 意義는 아직 完全히 밝혀져 있는 않으며, 本研究에서와 같이 絶食狀態에서 다른 酵素와는 달리活性이 低下되지 않는것이 特異하다고 하겠다. 따라서 이酵素에는 人蔘이 別로 영향을 미칠必要가 없는 것으로 생각된다.

## 要 約

絶食시켰을 때 肝機能検査時에 많이 사용되는 血清 alanine aminotransferase 와 alkaline phosphatase 가 어떻게 變化하며 또 人蔘의 投與가 이것에 어떤効果를 미치는가를 알아 보기 위하여 體重이 約 250g 되는 Sprague-Dawley 種의 흰쥐를 使用하여 調査해 본結果는 다음과 같았다.

動物을 絶식시키므로 體重은 1日에 約 10%씩 減少되었으며, 人蔘을 投與해도 絶食으로 因한 體

重減少에는 別다른 영향을 미치지 않았다.

血清 alanine aminotransferase 的 活性은 絶食後 減少되어 絶食 3日째에는 約 5分의 2로 顯著히 낮은 値를 보였다. 人蔘의 投與는 絶食으로 因한 이 酶素活性의 低下를 뚜렷하게 遏止하는 効果를 나타내었다.

한편 血清 alkaline phosphatase는 絶食시켜도 別다른 變動을 나타내지 않았으며 따라서 人蔘은 이 酶素의 活性에는 영향을 미치질 않았다.

### 參 考 文 獻

- Benedict, F.G.: A study of prolonged fasting. Washington, D.C., Carnegie Institute, 1915 (Publication No. 203).
- DuBois, E.F.: The proportions in which protein, fat and carbohydrates are metabolized in disease. Lecture on Nutrition, Philadelphia, W. B. Saunders Co., p. 77. 1925,
- Owen, O. E., Morgan, A. P., Kemp, H. G., Sullivan, J. M., Herrera, M. G., and Cahill, G. F. Jr.: Brain metabolism during fasting. *J. Clin. Invest.*, 46:1589-1595, 1967.
- Cahill, G. F. Jr., Herrera, M. G., and Morgan, A. P.: Hormonal-fuel interrelationships during fasting. *J. Clin. Invest.*, 45:1751-1769, 1966.
- Cahill, G. F. Jr.: Starvation in man. *New Engl. J. Med.*, 282:668-675, 1970.
- Felig, P., Owen, O. E., Wahren, J., and Cahill, G. F. Jr.: Amino acid metabolism during prolonged starvation. *J. Clin. Invest.*, 48:585-594, 1969.
- Boulter, P. R., Hoffman, R. S., and Arky, R. A.: Pattern of sodium excretion accompanying starvation. *Metabolism*, 22: 675-83, 1973.
- Sauder, C. D., Boulter, P. R., and Arky, R. A.: The natriuretic effect of glucagon and its role in starvation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:761-765, 1973.
- Sauder, C. D. and Felig, P.: The metab- olic events of starvation. *Am. J. Med.*, 60:117-125, 1976.
- Cahill, G. F., Jr. Owen, O. E., and Morgan, A. P.: The consumption of fuels during prolonged starvation. *Adv. Enzyme Regulat.*, 6:143-150, 1968.
- Martin, D. W., Mayes, P. A., and Rodwell, V. W.: Harper's review of biochemistry. 18th ed., Lange Med. Publication, California, pp. 245-261, 1981,
- Marliiss, E. B., Aoki, T. T., Unger, R. H., Soeldner, J. S., and Cahill, G. F. Jr.: Glucagon levels and metabolic effects in fasting. *J. Clin. Invest.*, 49:2256-2262, 1970.
- Titz, N. W.: Fundamentals of clinical chemistry. Saunders Co., London, pp. 602 -681. 1976,
- Davidson, I., and Hery, J. B.: Clinical diagnosis. Saunders Co., London, pp. 832-868, 1974,
- Gutman, A. B.: Serum alkaline phosphatase activity in disease of skeletal and hepatobiliary system. *Am. J. Med.*, 27:875-882, 1959.
- Posen, S.: Alkaline phosphatase. *Ann. Int. Med.*, 67:183-189, 1967.
- Bae, H. W.: Korean ginseng. Korean Ginseng Research Inst., Seoul, Korea, 1979.
- 洪思岳, 林定圭, 朴贊雄, 車仁壽: 人蔘의 藥理 高麗人蔘學會誌, 3:66-93, 1979.
- Proceedings of the 3rd international ginseng symposium, ed., by Korea Ginseng Research Inst., Seoul, 1980.
- Proceedings of the 2nd international ginseng symposium, ed., by Korea Ginseng Research Inst., Seoul, 1978.
- Proceeding of international ginseng symposium, ed., by Korea Ginseng Research Inst., Seoul, 1974.
- Symposium of gerontology lugano; the proceedings of ginseng, ed., by Korea Ginseng Research Inst., Seoul, 1976.
- Abstracts of Korea ginseng studies(1687-

- 1975), ed. by Korea Ginseng Research Inst., Seoul, 1975.
24. 朴聖鏞, 曹準承: 人蔘成分의 糖代謝에 미치는 影響. 慶北醫大雜誌, 18(2): 158-165, 1977.
25. 李正範, 曹準承: 人蔘成分의 amino 酸代謝에 미치는 影響. 慶北醫大雜誌, 18(1): 12-18, 1977.
26. 김원호, 조준승: Glucose-<sup>14</sup>C 및 amino acid mixture-<sup>14</sup>C 가 脾의 지질 및 단백질에의 편입에 대한 임상성분의 영향. 한국생화학회지, 12(3): 129-135, 1979.
27. 郭再潔, 曹準承: 脂肪組織에 있어 glucose-<sup>14</sup>C의 脂質에의 編入에 대한 人蔘成分의 影響. 慶北醫大雜誌, 21(2): 506-511, 1980.
28. Reitman, S., and Frankel, S.: Alkaline phosphatase in obstructive jaundice. Am. J. Clin. Path., 28: 56-61, 1956.
29. Bessey, O. A., Lowry, O. H., and Brock, M. J.: Method for rapid determination of alkaline phosphatase with 5 cubic millimeters of serum. J. Biol. Chem., 164: 321-328, 1946.
30. Felig, P.: The glucose-alanine cycle. Metabolism, 22: 179-207, 1973.
31. Mallette, L. E., Exton, J. H., and Park, C. R.: Control of gluconeogenesis from amino acids in the perfused rat liver. J. Biol. Chem., 244: 5713-5720, 1969.
32. Garber, A. J., Menzel, P. H., Boden, G., and Owen, O. E.: Hepatic ketogenesis and gluconeogenesis in humans. J. Clin. Invest., 54: 981-88, 1974.
33. Pozefsky, T., Tancredi, R. G., Moxley, R. T., Dupre, J., and Tobin, J.: Forearm tissue metabolism in postabsorptive and 60 hr. fasted man. J. Clin. Invest., 53: 61-62, 1974.
34. Blackshear, P. J., Holloway, P. A. H., and Alberti, K. G. M. M.: The effects of starvation and insulin on the release of gluconeogenic substrates from the extrahepatic tissue in vivo. FEBS Letters, 48: 310-316, 1974.
35. 茂田二一, 坂岸良吉: Alkaline phosphatase 蛋白質, 核酸, 酶素, 24: 131-144, 1979.
36. Kay, H. D.: Serum alkaline phosphatase in bone diseases. Brit. J. Exp. Pathol., 10: 253-59, 1929.
37. Roberts, W. M.: Serum alkaline phosphatase in liver diseases. Brit. J. Exp. Pathol., 11: 90-97, 1930.
38. 白義允: 總膽管結紮로 因한 各種 肝機能検査值 變動에 關하여. 大韓醫學協會誌, 7: 942-946, 1964.
39. 飯野四郎, 三木一正, 鈴木容 織田敏深: 肝疾患에 alkaline phosphatase. 代謝(日文) 16: 207-213, 1979.
40. 李斗龍, 曹準承: 總膽管結紮로 因한 血清 alkaline phosphatase 및 lactate dehydrogenase의 isozyme像의 變動. 慶北醫大雜誌, 21(2): 512-521, 1980.
41. Fishman, W. H., Green, S., and Inglis, N. I.: L-Phenylalanine: An organ specific, stereospecific inhibitor of human intestinal alkaline phosphatase. Nature, 198: 685-692, 1963.
42. Neale, F. C., Clubb, J. C., and Hotchkiss, D.: Heat stability of human placental alkaline phosphatase. J. Clin. Pathol., 18: 359-363, 1965.
43. Kaplan, M. M., and Righetti, A.: Induction of rat liver alkaline phosphatase: the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. J. Clin. Invest., 49: 508-516, 1970.
44. Righetti, A., Kaplan, M. M., and Raben, M. S.: Properties of rat liver alkaline phosphatase before and after bile duct ligation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 145: 735, 1974.
45. Polin, S. G., Spellberg, M. A., Teitelman, L., and Okumura, M.: The origin of elevation of serum alkaline phosphatase in hepatic disease, an experimental study. Gastroenterology, 42: 431-438, 1962.
46. Sebesta, D. G., Bradshaw, F. J., and Prockop, O. J.: Source of the elevated serum alkaline phosphatase activity in biliary obstruction; studies using isolated liver perfusion. Gastroenterology, 47: 166-170, 1964.