J. Fd Hyg. Safety 10(3), 163 - 168(1995)

마늘성분이 Lard와 Alcohol을 섭취한 흰쥐 혈청중의 효소활성에 미치는 영향

변부형 · 김석환* · 정혜광** · 김부여*** · 남철현 · 노병의

*경산대학교 보건대학원, *동아대학교 식품영양학과, **조선대학교 환경학과, ***한국과학기술원 생물과학과*

Effect of Garlic on Enzyme Activities of Rats Fed Lard and Alcohol

Boo-Hyeong Byun, Seok-Hwan Kim*, Hye-Gwang Jeong**,

Bu-Yeo Kim*, Chul-Hyun Nam and Pyong-Ui Roh**

*Graduate School of Public Health, Kyung San University, *Dept. of Food and Nutrition, Dong-A University, **Dept. of Environmental Science, Chosun University, ***Dept. of Biological Science, KAIST*

ABSTRACT—The present study has been undertaken to investigate the effects of garlic added to food on the activities of several enzymes in serum of rats fed lard and alcohol. Thirty-five males of Sprague-Dawley strains weighed about 130g were divided into 7 groups, each group receiving a different diet for 10 weeks; i.e. basal diet plus 15% lard, basal diet plus 5% alcohol, basal diet plus 0.5% garlic, basal diet plus 15% lard and 0.5% garlic. Determinations were carried out on the net weight gain, food efficiency ratio, weight of organs, and AST, ALT, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase activities in serum of rats. The results obtained were as follows: Rats given feed containing lard and alcohol showed significant decrease in net weight gain, but garlic caused an increase in food efficiency ratio. Lard supplementation caused an increase in the weight of liver, kidney, spleen, but another groups did not. AST, ALT, ALP, LDH of serum were significantly increased in lard and alcohol containing group but garlic feeding decreased enzyme activities compared to lard and alcohol containing group. The above results suggest that garlic would prevent the metabolic disease of liver by improving hyperlipemia caused by high fat diet.

Keywords □ Garlic, Lard, Alcohol, Serum enzyme activity

서 론

문명의 발달과 더불어 인간이 섭취하는 지질의 양은 날로 증가하는 추세에 있다.[1] 지방의 과다섭취는 지방대사에 이상을 초래하며 이로 인하여 혈액 및 여러 장기조직에서의 지질성분에 변화를 야기시키고, 지방침착을 일으켜 비만증과 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 및 심장질환등을 유발시킨다고 한다.[1-4] 식이지방은 그 함량과 종류에 따라서 생체에 미치는 영향이 다르다[4]고 알려져 있다. 일반적으로 식품의 지방원으로서는 불포화지방산을 다량 함유하고 있는 식물유와 포화지방산을 주 구성성분으로 하고 있는 동물지방유로 구분되고 있으며 대체로 동물성지방의 다량 섭취시 간이나 지방조직에서 지방축적현상이 잘 일어난다고 보고하고 있다.[5-10] 한편 식품첨가물이나 ethanol[11]과 같은 물질도 지질대사에 영향을 준다고 한다.

마늘(*Allium Sativum L.*)은 오래 전부터 식품의 보존제[17]와 향신료 및 의약품의 용도로 널리 이용되어져 온 식물이다. 최근 여러 연구자들은 마늘성분이 항균작용, 항고혈압작용, 혈소판 응집억제작용, 항암효과, 혈중 cholesterol가를 저하시키는 다양한 작용 및 여러가지 대사성질환의 예방과 치료에 유효 할 것이라고 보고[12-14]하고 있으나 고지방식이와 관련되어 연구한 것은 미비한 실정이다.

이에 저자는 마늘성분이 만성적으로 lard 와 alcohol을 섭취케 한 실험동물에 있어서 성장률과 장기의 무게 및 간담도계 질환시 혈중으로 다량 누출되어 혈중에 그 활성이 증가되어진다고 알려져 있는 aspartate aminotransferase (L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, E.C 2.6.1.1; AST),[15] alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotr-

ansferase, E.C 2.6.1.2; ALT), lactate dehydrogenase (L-lactate: NAD^+ oxidoreductase, E.C 1.1.1.27; LDH), 및 alkaline phosphatase (ortho-phosphoric monoester phosphohydrolase, E.C 3.1.3.1 ; ALP)의 활성을 상호 비교 검토하였다.[16-17]

실험재료 및 방법

실험동물

일정한 조건으로 사육한 130 g 내외의 Sprague-Dawley 계 웅성 흰쥐를 1주간 기본식이(실험동물용 배합사료, 제일사료주식회사 제품)로 적응시킨 후, 7군으로 분류하여 10주 동안 사육하였다. Alcohol과 마늘의 투여는 물대신 그 수용액을 섭취케 하였으며 lard의 급여는 기본식이에 15% 첨가함으로써 섭취케 하였다.

본 실험에 사용한 식이의 조성은 Table 1과 같다.

식이섭취량 측정

식이는 매일 일정한 시간에 칭량하여 급여하고 급여량에서 섭식후 잔존한 사료량을 감하여 실제 섭취량을 산출하였다.

체중증가량 측정

실험 기간동안 매주 일정한 조건하에서 측정하였으며 이때 식이섭취에서 오는 체중의 급격한 변화를 최대한으로 줄이기 위해서 체중 측정전 16시간 동안은 식이급여를 중단하였으며, 총체중증가량은 최종체중에서 실험 시작시의 체중을 감하여 산출하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Group	Diets
I	Basal diets*[1]
II	Basal+Lard*[2]
III	Basal+Alcohol*[3]
IV	Basal+Garlic*[4]
V	Basal+Lard*[2]+Garlic*[4]
VI	Basal+Alcohol*[3]+Garlic*[4]
VII	Basal+Lard*[2]+Alcohol*[3]+Garlic*[4]

*[1] Basal diets; crude protein below 22%
crude lipid below 3.0%
crude fiber below 6.0%
crude ash below 9.0%
*[2] Lard (15%) mixed with the basal diet
*[3] Alcohol (5%) in drinking water
*[4] Garlic (0.5%) in drinking water

사료효율(F.E.R) 측정

사료효율은 섭취한 사료 일정량에 대한 각 군별 이용효율을 관찰한 것으로서 일주간의 사료섭취량과 그 동안의 체중증가량으로써 산출하였다.

채혈 및 각종 장기 중량 측정

10주간 사육한 흰쥐를 실험전 16시간 동안 절식시켰으며, ether로 가볍게 마취한 다음 복부대동맥으로부터 채혈하고 즉시 간장과 심장, 신장 및 비장을 적출하였다. 적출한 장기는 생리식염수로 세척한 후 여과지로 수분과 혈액및 기타 부저물질을 제거한 다음 칭량하여 체중 100 g 당 장기의 무게로 환산하였다.

한편 채취한 혈액은 실온에서 약 30분 동안 방치하여 응고시킨 다음 3000 rpm 에서 15분간 원심분리하여 혈청을 취하였으며 이것을 실험에 사용하였다

혈청의 생화학적 검사

혈청중 transaminase활성도 측정 — 혈청중의 AST, ALT는 Kit (ASAN PHARM CO, LTD)를 사용하여 측정하였다.

즉, AST (100 m*l*당 L-aspartic acid 2.60 mg 및 Ketoglutaric acid 29.2 mg 함유) 및 ALT (100 m*l*당 DL-alanine 1.78 m*l* 및 α-ketoglutaric acid 29.2 mg 함유) 기질액 1.0 ml를 37°C에서 AST는 60분, ALT는 30분간 반응시킨 후 정색시액 (100 m*l*당 2,4-dinitro phenylhydrazine 19.8 mg 함유) 1.0 m*l*를 가해 반응을 종료시킨 후, 0.4N NaOH 용액을 10 m*l* 가하여 잘 혼화하여 10분간 방치하고, 파장 505 nm에서 그 흡광도(Shimadzu UV/vis 240)를 측정한 다음 표준곡선에 의거해 그 활성도를 산출하였다.

AST, ALT의 단위는 혈청 1 m*l* 당 Karmen unit로 표시하였다.

혈청중 ALP의 활성 측정 — 혈청 ALP의 활성 측정은 phosphophenol을 기질로 해서 효소반응으로 생긴 phenol을 4-aminoantipyrine과 축합시켜 생성된 quinone을 비색정량하는 Kind-King 방법[31]에 준해서 측정하였다.

이때 반응액은 기질완충액(100 m*l* 당 Na_2CO_3 0.260 g, $NaHCO_3$ 0.168 g, 페닐인산-2-나트륨 0.109 g, 4-aminoantipyrine 0.05 g) 2.0 m*l*에 혈청 0.05 m*l*를 가해 37°C에서 15분간 반응시킨 다음 정색시액(100 m*l*당 과요산나트륨 0.101 g, 붕산 2.0 g, NaH 0.128 g) 2.0 m*l*를 첨가하여 10분이 경과한 다음 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

본 효소의 활성 단위는 혈청 100 m*l*가 15분 동안 유리한 phenol의 mg수를 나타내는 King-Amstrong 단위로 표시하

였다.[18]

혈청중 LDH의 활성 측정—혈청중 LDH의 활성 측정은 L-Lactic acid를 기질로 조효소로서 NAD^+를, 중간 전자운반체로 1-Methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate (1-Methoxy PMS)를, 그리고 발색시약으로 2-(P-Iodophenol)-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride (INT)를 사용하여 37℃에서 5분간 반응시켜 생성된 formazan의 자색을 비색정량하는 Babson 및 Philips의 방법에 준하였으며 이때 반응액은 0.2 M tris-HCl 완충액(pH 8.5)에 50 mM L-Lactate, 1.5 mM NAD^+, 0.8 mM INT 및 0.32 mM PMS가 함유되도록 하였다. 그리고 lactate dehydrogenase 활성 단위는 Wroblewski 단위로 환산하여 나타내었다.[19]

통계처리

통계처리는 완전 임의법에 의하여 처리에 대한 분산분석을 하였고, 각 처리군과 수준간 유의성은 ($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$)에서 Student t test로 행하였다.

실험결과 및 고찰

체중증가량 및 사료효율

10주간 사육한 실험동물의 순체중증가량 식이섭취량 및 사료효율은 Table 2에 표시하였다.

순체중증가량은 기본식이군(I군)이 214 g 인데 비해 lard, alcohol 투여군은 각각 152 g, 155 g으로 유의($p<0.001$)한 감소를 보였고 식이섭취량도 감소하는 경향을 나타내었다. 마늘 단독 투여군(IV군)은 약간의 체중 증가를 보였으나 유의성은 없었다. 또한 lard와 마늘(V군), alcohol과 마늘(VI군), lard, alcohol, 마늘(VII군)을 동시 투여한 군도 기본식이군에 비하여 각각 유의적($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$)인 감소를 보였으며 식이섭취량도 현저히 감소함을 알 수가 있다. 이러한 결과는 실험조건의 차이에서 오는 결과로 생각되어진다.

한편 식이효율은 lard와 마늘을 급여한 군(II, V 군)에서는 기본식이로 성장시킨 대조군에 비해 높았으나, 그 외 alcohol을 투여한 군들은 비슷하거나 낮은 경향을 보였다.

이상의 결과에서 lard와 마늘을 급여하면 식이효율은 증가하나 체중감소와 식이섭취량의 저하를 나타내었다. 이는 lard나 마늘 성분에 의해 대사율이 촉진되는 것으로 생각된다. 그러나, alcohol을 만성적으로 섭취한 군에서는 식이효율, 체중, 식이섭취량이 모두 저하되었다. 이것은 alcohol 섭취에 의한 식이효율 감소로 성장이 저해되었을 것으로 사료된다

각종 장기 중량 변화

단위 체중당 각종 장기 중양은 Table 3과 같다.

간장의 중량은 기본식이군(I군)에 비해 lard를 급여한 군(II군)과 alcohol을 단독처리한 군(III군)에서 유의($p<0.05$)하게 증가하였다. 이러한 결과는 Levy등[23]의 결과와 일치하는 것으로서 lard나 alcohol의 섭취에 의해 간장중에 지질이 축적됨으로써 야기된 것으로 생각되어 진다.

한편 Kidney와 Spleen의 중량은 lard 첨가군(II군)이 기본식이군(I군)에 비해 유의한 ($p<0.05$) 차이를 보였다.

혈청 AST, ALT의 활성 변동

각 실험 조건으로 사육시킨 흰쥐에 있어서 혈청 AST, ALT 활성을 측정한 것은 Table 4와 같다.

Table 2. Effect of garlic on net weight gain, food intake, F.E.R.[1] in 10 week-old male rats fed lard and alcohol

Group	Net weight gain[2] (g)	Total food intake (g)	F.E.R.
I	214.86± 7.56	1356.32	0.16
II	152.98±21.21***	763.29	0.20
III	155.15±11.49***	1083.91	0.11
IV	220.78±10.16	1028.59	0.21
V	161.83±18.44*	901.61	0.25
VI	150.62±15.67**	936.77	0.18
VII	136.82±10.76***		0.11

[1]F.E.R.; Food Efficiency Ratio

[2]Mean±S.E.

*: Significantly different from control group

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

Table 3. Effect of garlic on organ weight (% body weight)

Group	Liver	Kidney	Heart	Spleen
I	2.73±0.094	0.691±0.028	0.291±0.019	0.46 ±0.048
II	3.14±0.112*	0.605±0.024*	0.285±0.021	0.272±0.014*
III	3.09±0.116*	0.691±0.020	0.311±0.022	0.410±0.062
IV	2.69±0.134	0.686±0.035	0.288±0.020	0.408±0.057
V	2.92±0.127	0.662±0.036	0.269±0.027	0.398±0.035
VI	2.86±0.056	0.645±0.033	0.312±0.023	0.357±0.036
VII	2.99±0.09	0.667±0.02	0.242±0.017	0.316±0.022

All values are expressed as Mean±S.E. with 5 animals in each group.

*: Significantly different from control group

*: $p<0.05$

AST의 경우는 기본식이군(I군)에 비하여 lard를 섭취케 한 실험군(II군) 및 alcohol을 섭취케 한 실험군(III군)에서는 공히 약 1.6배 정도의 유의적인 ($p<0.001$) 증가를 나타내었으나, 마늘만을 투여한 실험군(IV군)에서는 기본식이군과 별다른 차이를 관찰할 수 없었다. Lard와 마늘을 동시에 처이한 실험군(V군)에서는 lard를 단독으로 처리한 실험군(II군)에 비해 약 30%정도 유의($p<0.01$)한 감소를 관찰할 수가 있었다. 그리고 alcohol과 마늘을 동시에 처치한 군(VI군)에서는 alcohol만을 섭취케 한 실험군에 비해 약 15%정도 감소하는 경향을 보였다.

또한 lard와 alcohol 및 마늘을 동시에 투여한 실험군(VII군)에서는 lard와 alcohol을 단독으로 처리한 군에 비하여 각각 약 30% 및 25% 정도 유의하게 감소하였다. 한편 AST경우는 실험군(V군)에 비해 유의적인 차이점을 보이지 않는 것으로 보아 garlic은 lard 와 alcohol이 함께 존재할 때 그 효과가 더 증가함을 알 수 있었다.

ALT의 경우는 lard를 사료에 첨가한 실험군과 alcohol을 음료수 대신에 섭취케 한 실험군에서는 기본식이군에 비해 공히 약 1.4배 정도의 유의적($p<0.05$, $p<0.01$)인 증가를 보였으나, 마늘을 단독 섭취케 한 실험군에서는 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다. 그리고 lard와 마늘을 처리한 군, alcohol과 마늘을 동시에 처리한 군에 있어서는 lard만 처리한 군과 alcohol만을 처리한 군에 비해 공히 효소의 활성이 20%정도 감소하였다.

한편 lard와 alcohol 및 마늘을 동시에 섭취케 한 실험군에서는 lard 및 alcohol을 단독으로 처리한 실험군에 비해 별다른 차이가 없었다. 이와 같이 AST, ALT의 활성 증가는 lard와 alcohol 투여에 의한 지방간 등 간실질세포 장애가 발생하여 혈중으로 투과성이 항진되어 나타난 것으로 생각되어 지며, 한편 마늘을 첨가한 군들에서는 lard와 alcohol을 단독 처리한 군에 비해 활성치가 감소하는 것은 Jain등[24]이 이미 보고한 바와 같이 마늘에 의해 간실질세포 장애가 완화됨으로써 나타난 결과로 사료되어진다.

Table 4. Effect of Garlic on AST, ALT activities in serum

(unit/ml)

Group	AST	ALT
I	90.61± 2.43	27.00±1.21
II	149.21±11.12	37.75±2.93**[a)]
III	141.82± 5.74***[a)]	38.33±4.81*[a)]
IV	95.22± 4.61	28.50±2.64
V	104.20± 4.82**[a)]	30.15±2.73*[a)]
VI	122.26± 7.80**[a)]	31.24±1.70*[a)]
VII	104.81± 4.33**[b)]***[c)]	34.31±2.86*[a)]

All values are expressed as Mean±S.E. with 5 animals in each group.

[a)] Significantly different from control group

[b)] Significantly different from II group

[c)] Significantly different from III group

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

혈청 LDH의 활성 변동

각 실험 조건에 따라 성장시킨 흰쥐에 있어서 혈청 LDH의 활성 변화는 Fig. 1과 같다.

기본식이를 섭취케 한 대조군이 494.8 unit인데 비해 lard만을 섭취케 한 실험군에서는 2166.5 unit로서 약 4.4배 ($p<0.01$), alcohol을 섭취케 한 군에서는 1073.02 unit로서 약 2.2배 정도이다. 그러나 마늘을 단독으로 섭취케 한 군에서는 대조군과 별다른 차이를 관찰할 수 없었다.

한편 lard와 마늘을 섭취케 한 군에서는 lard를 투여한 실험군에 비해 약 60% 정도의 활성치를 나타내었으나 유의적인 감소는 아니었다. Alcohol과 마늘을 동시에 섭취케 한 실험군에 있어서는 alcohol만을 섭취케 한 실험군과 별다른 차이는 없었다. Lard, alcohol 및 마늘을 동시에 투여한 군에 있어서는 lard를 단독으로 처리한 군에 비해서 약 75% ($p<0.01$) 정도 현저하게 감소하였으나, alcohol을 단독으로 처리한 군에 비해서는 약 45%정도 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 lard와 alcohol의 장기간 급여에 의한 lipemia[25]의 발생과 장기중에 지질 축적으로 인한 담즙울체에 기인

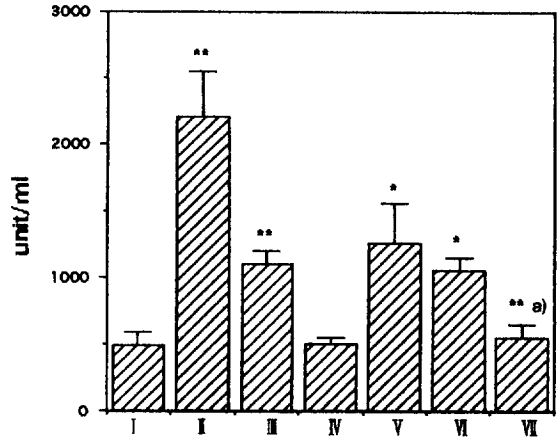

Fig. 1. Effect of garlic on the serum lactate dehydrogenase activity in rat.

All values are expressed as Mean±S.E. of 5 animals in each group. a)Significantly different from II Group *: $p<0.05$, **: $p<0.01$

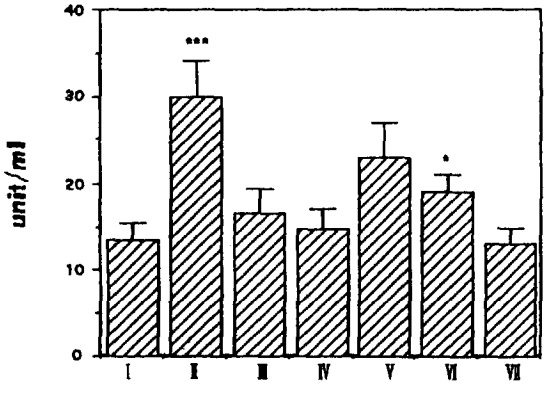

Fig. 2. Effect of gralic on the serum alkaline phosphatase activity in rat.
All Values are expressed as Mean±S.E. with 5 animals in each group. *: p<0.05, **: p<0.001

되어 혈청 LDH가 증가[15]한 것으로 생각되어진다. 그러나 마늘의 투여에 의해서 LDH의 활성이 감소되어짐이 관찰되었다. 이러한 결과는 마늘성분에 의해 손상된 병변이 다소 완화됨을 시사하고 있다.

혈청 ALP의 활성 변동

각 실험조건에 따라 사육한 흰쥐에 있어서 혈청 ALP의 활성 변동은 Fig. 2와 같다.

기본식이만을 섭취케 한 대조군에 비해 lard를 섭취케 한 군에서는 약 2.2배로 활성이 증가($p<0.001$)하였으나 alcohol을 섭취한 군과 마늘을 섭취케 한 군에서는 대조군에 비해 유의적인 변동은 관찰할 수 없었다. 또한 lard와 마늘을 동시에 섭취한 군에서는 lard만 전처리한 군에 비해 약 20% 이상의 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. Alcohol과 마늘을 섭취케 한 군에서는 alcohol만을 섭취케 한 군에 비해 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의한 차이를 나타내지 않았다. Lard와 alcohol, 그리고 마늘을 동시에 투여한 군에서는 대조군과 유사한 활성치를 나타내었다. 이는 담도폐쇄시 본효소가 증가한다는 Kaplan 등[26]의 보고를 고려하여 볼 때 lard의 섭취에 의한 과지방혈증의 발생과 그로 인한 간조직 특히 담관의 폐쇄에 의해 본효소의 활성이 증가되어진 것으로 생각된다.

국문요약

지질대사에 미치는 성분의 영향을 검토하기 위해서 흰쥐에 lard와 alcohol 및 마늘을 첨가한 식이를 10주간 급여하여 성장시킨 후 체중, 각종 장기 중량, 혈청중 AST, ALT, ALP, LDH의 활성을 측정하였을 때 다음과 같은 결과를 얻었다. Lard와 alcohol 첨가식이군에서는 체중과 식이섭취량은 감소하였으나 마늘의 투여에 의한 식이효율은 증가하였다. Lard의 첨가 식이로 성장시킨 실험군에서는 간장, 신장, 비장의 무게는 증가하였으나 다른 식이군에서의 중량변화는 없었다. 혈청중 AST, ALT, LDH, ALP 활성은 lard, alcohol을 첨가한 식이군(II, III군)에 비해 유의한 감소를 나타내었다. 이상의 실험결과로 보아 lard및 alcohol의 만성적인 섭취는 실험동물의 간기능에 손상을 유발하여 혈청중 AST, ALT, LDH, ALP활성이 증가하였으나 마늘을 첨가한 실험군에서는 위와 같은 효소의 활성이 유의적으로 감소하였다. 따라서 마늘성분은 고지방식이로 인한 고지혈증을 개선함으로써 간조직의 손상을 예방하여 줄 것으로 생각되어진다.

참고문헌

1. Mitchell, H.S., Rynbergen, H.J, Anderson, L., and Dibble, M.V., Nutrition in health and disease, 16th rd. New York, Lippinott Co., pp. 29-32, (1976).
2. Brown, M.S. and Foldstein, J.L., Disorders of lipid metabolism, Harrisons principle of internal medicine, 9th ed. Thorn, G.A., New York, McGraw-Hill Co., pp. 507-530, (1977).
3. Widdowson, E.M. and Dauncey, M.J., Obesity, Nutrition review, 4th ed. Hegsted, D.M., Nutrition Foundation Publication Inc.,New York, pp. 17-23, (1976).
4. Karma, J.H., Diabetes mellitus, hypoglycemia and lipoproteindisorders, Current medical diagnosis and treatment, Krupp, M.A. and Chatton, M.J., Lange Medical Pblication, pp. 738-789, (1979).
5. Tepperman, H.M. and Tepperman, J. Effect of saturated fat diets on rat liver NADP-linked enzymes. *Am. J. Physiol.*, **209**, 773-780, (1965).
6. Chen, S.C. Feeding free fatty acids to study lipid metab-

olison in rats. *J. Nutr.* **109**, 39-47, (1979).

7. Leveille, G.A. Adipose tissue metabolism: influence of periodicity of eating and diet composition. *Fed. Proc.*, **29**, 1294-1301, (1970).
8. Bahl, S. and Venkitasubramanian, T.A. Mechanism of lipid accumulation in rats fed wheat diets. *J. Nutr.* **107**, 1385-1393, (1977).
9. Wood, J.D. and Reid, J.T. The influence of dietary fat on fat metabolism and body fat deposition in meal-feeding and nibbling rats. *Br. J. Nutr.* **34**, 15-24, (1975).
10. Sinclair, A.J. and Collins, F.D. Fatty livers in rats de-ficient in essential fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta.* **152**, 498-510, (1968).
11. Lieber, C.S. and DeCarli, L.M. Quantitative relationship between amount of dietary fat and severity of alcoholic fatty liver. *Am. J. Clin. Nutr.* **23**, 474-478, (1970).
12. Jain, R.C., Vyas, C.R., and Mahatma, O.P. Letter: Hypoglycaemic action of onion and garlic. *Lancet*, **2**(844), 1491, (1973).
13. Bordia, A., Arora, S.K., Kothari, L.K., Jain, K.C., Rathore, B.S., Rathore, A.S., Dube, M.K., and Bhu, N. Atherosclerosis, **22**, 103-109, (1975).
14. Bordia, A. and Bansal, H.C. Letter: Essential oil of garlic in prevention of atherosclerosis. *Lancet*, **2**(844), 1491-1492, (1973).
15. Ginsberg, A.L. Very high levels of SGOT and LDH in patients with extrahepatic biliary tract obstruction. *Am. J. Dig. Dis.*, **15**, 803-807, (1970).
16. Connell, M.D. and Dinwoodie, A.J. Diagnostic use of serum alkaline phosphatase isoenzymes and 5-nucleotidase. *Clin. Chim. Acta.*, **30**, 235-241, (1970).
17. Belfield, A. Serum alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase activities in patients with hepatobiliary disease. *Clin. Chim. Acta.*, **37**, 525-529, (1972).
18. Bergmeyer, H.U., Methods of enzymetic analysis, 2nd ed. Academic Press, New York, pp. 860-84, (1974).
19. Babson, A.L. and Phillips, G.E. A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. *Clin. Chim. Acta.*, **12**, 210-215, (1965).
20. Muller, P.H., Schmulling, R.M., Liebich, H.M., and Eggstein.M. A fully enzymatic triglyceride determination. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **15**, 457-464, (1977).
21. Slickers, K.A. Enzyme-linked assays for cholesterol. *CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **8**, 193-212, (1977).
22. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S., Richmond, W., and Fu, P.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.*, **20**, 470-475, (1974).
23. Levy, R.I., Bonnell, M., and Ernst, N.D. Dietary management of hyperlipoproteinemia. *J. Am. Diet. Assoc.* **58**, 406-416, (1971).
24. Jain, R.C. and Konar, D.B. Effect of garlic oil in experimental cholesterol atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **29**, 125-129, (1978).
25. Baraona, E. and Lieber, C.S. Efcts of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J. Clin. Invest.*, **49**, 769-778, (1970).
26. 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).