

Serum Alkaline Phosphatase Levels in Healthy Korean Children and Adolescents

Se-Young Kwon and Young-Ak Na

Department of Biomedical Laboratory Science, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

Children and adolescents normally have higher Alkaline phosphatase levels than adults. This study was conducted to provide basic data about pediatric reference intervals for ALP. The data from the 2011 Korean National Health and Nutrition Examination Survey was used. Analysis was done for 847 Children and Adolescents (443 boys and 404 girls) aged 10 to 19. The method of *p*-NPP & EAE buffer was used to get the data. The highest ALP levels were found in boys aged 12 to 13, the reference interval being 653 ~ 1,518 IU/L; the levels decreased for those over 13 years old. In the case of girls, the highest ALP levels were found with those aged between 11 and 12, the reference interval being 463 ~ 1,598 IU/L; the levels decreased after 12 years of age. The mean difference in all age groups was statistically significant, except for those aged 10 to 11 and 11 to 12. Therefore, it is suggested that pediatric reference intervals should be divided into three groups according to gender. Complementing data about children and adolescents below 10 years old were not included in this study and will be much needed in the next trial.

Keywords: Alkaline phosphatase, Children & Adolescent, Reference intervals

Corresponding author: Se-Young Kwon
Department of Biomedical Laboratory Science,
Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea
Tel: 82-53-320-1362
E-mail: sykwon@dhc.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2014 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

Received: August 21, 2014
Revised: September 16, 2014
Accepted: September 16, 2014

서론

Alkaline phosphatase (ALP)는 pH 9~10.5에서 최적 활성을 나타내며 인산모노에스터(phosphomonoester)의 가수 분해를 촉매하는 효소(EC 3.1.3.1)로서 거의 모든 조직에서 광범위하게 존재하며 콩팥, 소장, 뼈, 태반, 간 등에서 활성이 높아(Kruse 등, 1977; Plomteux와 Reginster, 1980) 그와 관련된 질환에서 증가한다고 알려져 있다(Lott와 Wolf, 1986).

ALP는 Robinson (1923)과 Kay (1929)와 같은 초기 연구자들에 의해 뼈 질환에서 혈청 ALP의 활성이 높아지는 것이 밝혀지면서 뼈 질환의 진단에 이용하기 시작했는데, Kay (1930)는 β -glycerophosphate를 기질로 하여 증명하였고, 이후 Bowers와 McComb (1966)가 수정 보완된 kinetic assay를 제안하였으며, Hausamen 등(1967)은 완충액으로 diethanolamine을 사용하여 측정 방법을 개선하였다. 현재 ALP 활성 측정법은 오래전부터 사용되어 온 방법(King과 Armstrong, 1934; Shinowara 등, 1942; Bessey 등, 1946; Kind와 King, 1954; Moss, 1966) 뿐 아니라 전

류측정법, 전위차 측정법, 전기영동법, 고성능 액체크로마토그래피법(Togari 등, 1987) 등 다양한 방법이 사용되고 있으며 여러 질환 중에서도 주로 뼈 질환과 간담도 질환에 적용되고 있다. 뿐만 아니라 이러한 방법들을 통해 정상적으로 뼈 성장이 왕성한 성장기 소아나 청소년기에 그 활성치가 증가함이 밝혀졌다(kaplan, 1972; Penttila 등, 1975; Fleisher 등, 1977; Schiele 등, 1983).

하지만 현재 국내 검사기관에서 사용하는 측정방법도 다양할 뿐 아니라, 혈청 ALP의 생리적 변동이 성인의 3~4배까지 상승할 정도로 성장기 소아에 높고 소아 청소년의 연령에 따른 ALP의 활성 변동이 크게 나타남에도 불구하고 연령에 따른 참고치에 대한 자료는 미흡한 실정이며 부적합한 참고범위의 사용으로 유아 및 청소년에서 종종 진단의 오류를 범할 수도 있어 적합한 참고범위의 설정이 중요하다.

이에 본 연구에서는 10세 이상 20세 미만 소아청소년의 연령과 성별에 따른 혈청 ALP의 활성치를 살펴봄으로써 참고치 설정을 위한 기초 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

2011년 1월부터 12월까지 시행된 국민건강영양조사에서 10세 이상 20세 미만 연령의 소아청소년 총 1,008명 중 ALP 측정 결과가 누락된 결측치와 간 및 뼈 질환이 있는 대상자를 제외한 총 847명 (남자 443명, 여자 404명)의 데이터를 대상으로 하였다. 본 연구는 질병관리본부 연구윤리심의위원회의 승인을 받아 수행된 조사 자료(승인번호: 2011-02CON-06-C)를 대상으로 분석을 시행하였다.

2. 연구 방법

혈액 검사는 8시간 이상 공복 상태에서 대상자들의 정맥 채혈을 시행하였으며, ALP 검사의 측정 시약은 Pureauto S ALP (Sekisui/JAPAN)를 사용하여 효소법으로 측정하였다. 효소 활성 측정 시약의 완충액 성분은 ethyl amino ethanol (EAE)이며 기질은 *p*-nitrophenyl phosphate (*p*-NPP)가 사용되었고 성인의 참고 정상치는 120-370 U/L이다. 측정 장비는 Hitachi 7600 (Hitachi high-technologies Co., Tokyo, Japan) 자동화학 분석기를 사용하였다.

3. 통계 분석

본 연구 대상자의 연령에 따른 ALP 활성치의 분포를 살펴보기 위해 각 연령별 ALP의 평균, 중앙값, 표준편차(SD), 평균에 대한 95% 신뢰구간(lower limits, upper limits), 최소값과 최대값에 대한 기술통계를 제시하였으며, 연령별 ALP의 백분위수를 2.5백분위수(2.5th percentiles)에서 97.5백분위수(97.5th percentiles)

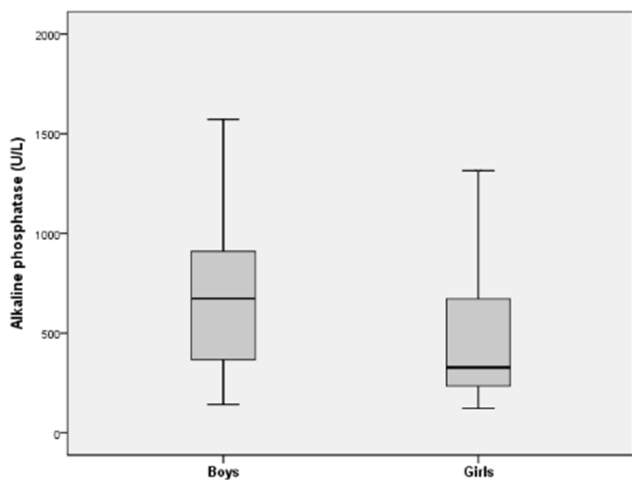


Fig. 1. Distribution of ALP levels for those aged between 10 and 19 by gender (Mean and 95% CI). The mean difference by gender were statistically significant ($p < 0.05$). C.I, confidence interval.

까지 구간별로 나누어 구하였다. 연령별 ALP의 차이는 성별에 따라 나누어 ANOVA (one-way)를 이용하여 분석한 후 Tukey HSD사 후 검정을 시행하였다. 10세 이상 20세 미만이 포함된 본 연구에서 연령의 구분은 만연령으로 하였으며, 10세는 10세 이상 11세 미만을 나타낸다. 그래프는 남녀 연령별 ALP의 분포에서 나타난 기술통계량들을 box plot으로 제시하였다. 각 연령별 ALP의 남녀간의 차이는 독립표본 T-검정(independent T-test)을 시행하였다. 자료에 대한 통계분석은 SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였으며, 결과 해석 시 p 값은 0.05 미만을 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

성별과 연령에 따른 ALP 활성치의 비교에서 전체 대상자 847명 중 남자 443명의 평균은 671 U/L, 여자 404명의 평균은 473 U/L로 남자의 평균치가 여아보다 더 높았으며 성별에 따라 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$) (Fig. 1).

남아의 경우 혈청 ALP의 평균치는 12~13세에서 1,007 U/L (min 648 U/L, max 1,527 U/L)로 가장 높았으며, 그 다음 13~14세에 962 U/L (min 484 U/L, max 1,521 U/L)로 높게 나타났고 이후 연령이 증가할수록 감소하였는데, 17~18세에 평균 371 U/L로 감소하면서 이후 성인의 혈청 ALP수준으로 감소하는 양상을 보였다(Fig. 2).

여아의 경우 혈청 ALP의 평균치는 11~12세에서 894 U/L (min 452 U/L, max 1,616 U/L)로 가장 높았으며, 그 다음 10~11세에

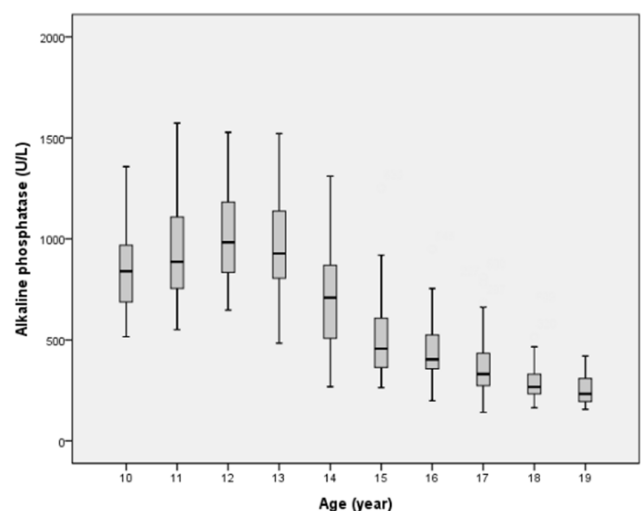


Fig. 2. Change of ALP levels for the boys aged between 10 and 19 (Mean and 95% CI). The highest ALP levels were found in boys aged 12 to 13 years, and the reference intervals were 653~1,518 U/L. While the levels showed decrease to those over 13 years old. C.I, confidence interval.

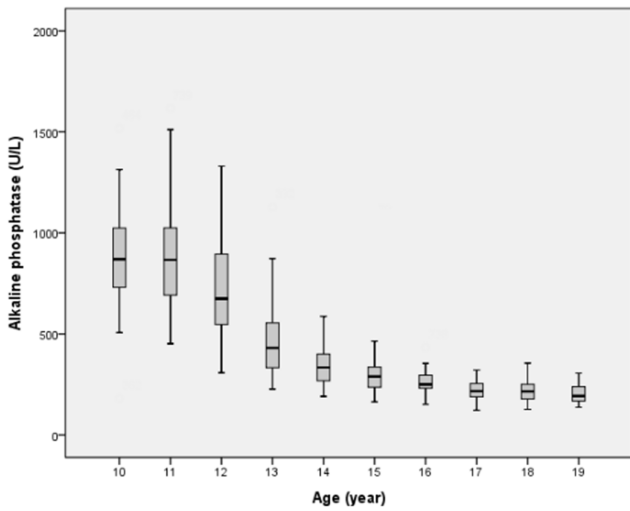


Fig. 3. Change of ALP levels for the girls aged between 10 and 19 (Mean and 95% CI). The highest ALP levels were found at those aged between 11 and 12, and the reference intervals were 463~1,598 U/L. While the levels showed decrease after 12 years old. C.I., confidence interval.

878 U/L (min 181 U/L, max 1,517 U/L) 로 높게 나타났고 이후 연령 증가에 따른 감소를 보이다가 14~15세에 평균 340 U/L로 감소하면서 이후에 성인의 혈청 농도 수준으로 안정화되었다(Fig. 3) (Table 1).

각각의 연령군에서 성별에 따른 ALP 활성치의 평균을 비교한 결과 10~11세, 11~12세의 경우 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 이를 제외한 나머지 모든 연령군에서 평균값의 차이는 통계적으로 유의하였다($p < 0.001$). 그리고 남녀 각각의 성별군 내에서 평균의 차이를 다중비교를 통해 사후분석한 결과 남아의 경우 10~13세, 14~16세, 17~19세 연령군에서, 여아의 경우 10~12세, 13~15세, 16~19세 연령군에서 각각 비유의성이 검증되었다 (Table 2).

참고범위 설정을 위해 성별과 연령에 따라 2.5백분위수와 97.5 백분위수를 비롯하여 각 백분위수(%)에 따라 활성치의 분포를 살펴본 결과, 남아 11~12세의 경우 2.5백분위수와 97.5백분위수에

Table 1. Mean serum alkaline phosphatase levels, median, SD, Minimum and Maximum values according to age groups (U/L)

	Age (yr)	N	Median	Mean	SD	SE	95% C.I. of mean		Min	Max
							Lower	Upper		
All	10	95	854	857	218	22	812	901	181	1,517
	11	88	879	913	244	26	861	965	452	1,616
	12	101	869	886	274	27	832	940	308	1,527
	13	92	703	718	328	34	650	786	227	1,521
	14	90	493	559	276	29	501	617	191	1,310
	15	87	368	429	201	22	386	471	164	1,251
	16	76	301	342	147	17	309	376	152	950
	17	92	255	291	130	14	264	318	122	809
	18	68	251	262	90	11	240	283	127	650
	19	58	203	223	64	8	207	240	137	420
Total		847	486	577	340	12	554	599	122	1,616
Boys	10	52	840	839	194	27	785	892	516	1,358
	11	42	887	934	226	35	863	1,004	551	1,573
	12	57	983	1,007	227	30	947	1,068	648	1,527
	13	46	928	962	245	36	889	1,034	484	1,521
	14	54	710	704	261	36	633	776	268	1,310
	15	52	457	507	195	27	453	561	264	1,251
	16	33	404	447	164	29	389	505	199	950
	17	42	331	371	153	24	324	419	142	809
	18	41	267	293	95	15	263	323	164	650
	19	24	233	255	76	15	223	287	156	420
Total		443	674	671	333	16	640	702	142	1,573
Girls	10	43	870	878	245	37	803	954	181	1,517
	11	46	867	894	261	38	816	971	452	1,616
	12	44	675	729	250	38	653	805	308	1,330
	13	46	431	474	189	28	418	530	227	1,127
	14	36	334	340	93	16	309	372	191	1,063
	15	35	289	312	149	25	261	363	164	587
	16	43	250	262	53	8	245	278	152	433
	17	50	217	223	42	6	211	235	122	321
	18	27	216	214	54	10	192	235	127	355
	19	34	193	201	43	7	186	216	137	306
Total		404	328	473	316	16	442	504	122	1,616

Table 2. Comparison of mean serum alkaline phosphatase levels based on age groups (U/L)

Age (yr)	Boys	Girls	p-value*	T [†]	T [‡]
10	839	878	0.379	a	a
11	934	894	0.443	a	a
12	1,007	729	<0.001	a	a
13	962	474	<0.001	a	b
14	704	340	<0.001	b	b
15	507	312	<0.001	b	b,c
16	447	262	<0.001	b,c	c
17	371	223	<0.001	c	c
18	293	214	<0.001	c	c
19	255	201	0.003	c	c
Total	671	473	<0.001		

*Statistical significance was tested by t-test.

[†]The same letters indicate non-significant difference between age groups based on Tukey's HSD multiple comparison test in boys.

[‡]The same letters indicate non-significant difference between age groups based on Tukey's HSD multiple comparison test in girls.

해당하는 범위는 553~1,553 U/L, 12~13세의 경우에는 653~1,518 U/L, 19~20세의 경우에는 156~419 U/L로 나타났다. 여아 11~12세의 경우 2.5백분위수와 97.5백분위수에 해당하는 범위는 463~1,598 U/L, 12~13세의 경우에는 318~1,318 U/L, 19~20세의 경우에는 137~297 U/L로 나타났다(Table 3).

고 찰

참고치 설정을 위한 기초 자료를 제시하고자 10세 이상 20세 미만 소아청소년의 연령과 성별에 따른 혈청 ALP의 활성치를 살펴본 있는데, ALP의 활성치는 성장과 관련이 있어 소아 청소년에서 그 수치가 높고, 여성에서는 12세 이후 남성에서는 14세 이후부터 감소하여서 남성의 경우 16~18세경에 성인 농도에 도달하게 된다고 알려져 있다(Fleisher 등, 1977; Turan 등, 2011). 본 연구에서도

Table 3. Distribution of serum alkaline phosphatase levels according to the percentile based on age groups

Age (yr)	Percentiles (U/L)									
	2.5	5	10	25	50	75	90	95	97.5	
All	10	511	544	585	697	854	972	1,175	1,235	1,340
	11	518	545	586	743	879	1,078	1,210	1,365	1,559
	12	404	461	544	675	869	1,093	1,259	1,328	1,446
	13	243	250	313	427	703	947	1,195	1,341	1,457
	14	210	238	268	335	493	736	999	1,099	1,251
	15	180	208	235	289	368	497	718	851	1,034
	16	185	194	209	244	301	387	556	682	770
	17	146	157	182	206	255	325	457	569	752
	18	128	137	164	202	251	299	367	431	551
	19	144	156	159	173	203	257	313	359	413
Total	161	184	207	268	486	835	1,073	1,202	1,300	
Boys	10	519	541	593	687	840	971	1,112	1,206	1,325
	11	553	578	659	755	887	1,113	1,204	1,304	1,553
	12	653	673	688	825	983	1,191	1,302	1,407	1,518
	13	491	557	682	805	928	1,150	1,337	1,457	1,511
	14	279	301	350	506	710	887	1,083	1,185	1,302
	15	264	276	301	362	457	612	782	880	1,143
	16	199	207	275	344	404	535	698	813	903
	17	143	158	205	272	331	438	620	770	807
	18	165	192	194	228	267	341	386	509	643
	19	156	157	167	192	233	311	381	417	419
Total	192	212	262	367	674	912	1,149	1,250	1,314	
Girls	10	214	516	583	715	870	1,028	1,201	1,297	1,497
	11	463	519	555	690	867	1,026	1,250	1,474	1,598
	12	318	395	449	546	675	922	1,111	1,214	1,318
	13	229	243	250	332	431	562	741	863	1,083
	14	191	205	231	268	334	400	478	584	841
	15	164	174	199	236	289	337	417	522	563
	16	156	189	196	230	250	296	342	353	425
	17	131	157	176	189	217	256	273	327	339
	18	127	128	130	169	216	251	280	303	315
	19	137	148	157	167	193	240	267	292	297
Total	156	168	189	236	328	673	971	1,129	1,227	

남아의 경우 12~13세에 가장 높은 활성치를 보였고, 13세 이후부터 감소하기 시작하였다. 여아의 경우는 11~12세에 가장 높고, 12세 이후부터 감소하여 성장과 관련 있는 효소로서 연령에 따른 경향을 다시 한 번 확인하였다.

David 등(2012)은 캐나다의 18세 이하 소아청소년 2188명을 대상으로 한 대규모 연구(Canadian Laboratory Initiative in Pediatric Reference Intervals, CALIPER)에서 40개의 혈중 지표들의 연령·성별에 따른 참고범위를 제시하였는데, ALP의 경우 10~12세, 13~14세, 15~16세, 17~18세로 연령을 세분화하였고, ALP 활성치는 10~12세 경우에는 141~460 U/L로 남녀 모두 동일하나, 13~14세 남아의 경우 127~517 U/L, 여아의 경우 62~280 U/L였고, 15~16세(남아 89~365 U/L, 여아 54~128 U/L), 17~18세(남아 59~164 U/L, 여아 48~95 U/L)로 연령이 증가함에 따라 감소하였다. Bowers와 McComb (1982)은 소아 청소년의 연령군을 1~9세, 10~14세, 15~19세로 나누었고, Amit 등(2003)은 ALP 활성치의 경우 미국 소아 청소년 연령군을 10~11세, 12~13세, 14~15세, 16~19세의 네 그룹으로 나누었으며, 참고치는 성별에 따라 각각 다르게 명시하였다. 또한 Fischbach와 Zawta (1992)의 계산으로부터 도출한 참고범위 설정 시 7~12세, 13~17세로 나눈 경우도 있었다. 본 연구에서는 10~11세, 11~12세를 제외한 나머지 모든 연령군에서 평균값의 차이를 보였고, 사후분석 결과 남아의 경우 10~13세, 14~16세, 17~19세 연령군에서, 여아의 경우 10~12세, 13~15세, 16~19세 연령군에서 각각 비유의성이 검증되었다. 이로써 우리나라 소아청소년의 참고범위 설정에는 성별에 따라 각각 세 그룹으로 나누고 참고 범위를 따로 제시하는 것이 타당할 것으로 보인다.

참고범위는 각 검사기관에서 그 대상자에 기초하여 분석법에 맞는 분석 조건에 따라 자체적으로 설정해야 하는데(Tietz, 1983; DGKC, 1992; Fischbach와 Zawta, 1992), ALP 측정 시 기질로는 *p*-NPP를 사용하는 방법이 폭넓게 쓰이고 있으며, 주로 많이 쓰이는 완충액의 종류에는 2-Amino-2-methyl-1-propanol (AMP) (Kay, 1930; King과 Armstrong, 1934; Bessey 등, 1946; Kind와 King, 1954; Bowers와 McComb, 1966), diethanolamine (DEA), Tris, and N-methyl-D-glucamine (MEG) 등 (Lewandrowski 등, 1992)이 있다. 현재 ALP 활성 측정법에 대한 표준 참고 방법은 없으나 효소에 대한 임상검사 표준 기관 전문가 위원회(Clinical Laboratory Standards Institute Expert Panel on Enzymes; CLSI/EPE)에서 그에 준하는 참고 방법으로 Bowers와 McComb에 의한 kinetic *p*-NPP법을 제시하고 있다(Bowers와 McComb, 1975; 1982). 현재 우리나라의 경우 임상정도관리검사에 제시하는 ALP 검사코드는 총 6개인데, 이 중에서 *p*-nitrophenyl phosphate

(*p*-NPP) & 2-amino-2-methyl-1-propanol (AMP) buffer (IFCC, Bower-McComb)를 사용하는 기관이 전체의 48.0%로 가장 사용 비율이 높았으며, *p*-NPP & ethyl amino ethanol (EAE) buffer 29.9%, *p*-NPP & diethanolamine (DEA) buffer (GSCC, Bessey-Lowry) 18.6%로 전체 기관의 약 96.5%에 해당하였고 그 외 4-aminoantipyrine을 사용하는 기관이 전체의 0.3%, 기타 검사법이 3.2%를 차지한다고 하였다. 이 중에서 측정원리에 따른 변동이 가장 적은 측정법은 *p*-NPP & EAE buffer로 나타났다(KAQA, 2014). 본 연구는 *p*-NPP & EAE buffer를 사용하여 분석한 자료에 의한 활성치 및 참고치의 분포이며 검사법과 시약이 다를 경우 참고치 설정과 해석에 주의해야 하므로(Tietz 등, 1983), 부적합한 참고범위의 사용으로 유아 및 청소년에서 종종 진단의 오류를 범하지 않도록 해야 한다.

또한 참고범위 설정을 위한 CLSI 지침(2008)에 따르면, 건강한 집단을 대상으로 한 결과의 분포에서 비모수적 방법(nonparametric method)으로 보통 2.5 백분위수와 97.5 백분위수 사이에 분포하는 95% 범위로 규정하고 각 해당 범위의 90%신뢰구간도 권장하고 있다. 본 연구에서 각 백분위수(%)에 따라 활성치의 분포를 살펴본 결과, 남아 11~12세의 경우 2.5백분위수와 97.5백분위수에 해당하는 범위는 553~1,553 U/L, 12~13세의 경우에는 653~1,518 U/L, 19~20세의 경우에는 156~419 U/L로 나타났고, 여아 11~12세의 경우 2.5백분위수와 97.5백분위수에 해당하는 범위는 463~1,598 U/L, 12~13세의 경우에는 318~1,318 U/L, 19~20세의 경우에는 137~297 U/L로 나타나 대략적인 활성치의 분포는 참고할 수 있을 것이다. 그러나 연구 대상자의 수가 847명(남 443명, 여 404명)으로 전체 대상자의 참고 범위를 설정함에는 충분하나 연령별 참고 범위로 사용하기에는 한계가 있으므로 더 많은 자료를 이용하여 검증하는 것이 필요하다.

본 연구에서 10세 이상 20세 미만 소아청소년의 혈청 ALP의 참고치 설정을 위한 기초 자료를 제시하고자 연령과 성별에 따른 활성치를 살펴보았다. 혈청 ALP의 활성은 성별·연령별 변화 양상이 다르므로 성인의 활성치와 달리 연령 또는 연령군별로 따로 설정되어야 함을 알 수 있었으며 본 연구에서 포함되지 않은 10세 이하 소아청소년의 자료를 보완하여 전체 소아청소년의 데이터를 구축하면 추후 임상에서 유용하게 활용될 것이다.

Acknowledgements: None

Funding: None

Conflict of interest: None

References

1. Amit K, Ghoshala, Steven J, Soldin. Evaluation of the Dade Behring Dimension RxL: integrated chemistry system-pediatric reference ranges. *Clinica Chimica Acta*. 2003, 331:135-146.
2. Bessey O, Lowry OH, Brock MJ. Method for the determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J Biol Chem*. 1946, 164:321-329.
3. Bowers GN, McComb RB. A continuous Spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase. *Clin Chem*. 1966, 12:70.
4. Bowers GN, McComb RB. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem*. 1975, 21: 1988-1995.
5. Bowers GN, McComb RB. Alkaline phosphatase, total activity in human serum. In: Faulkner WH, Meites S, eds. Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory. 1982, p79-83. American Association for Clinical Chemistry. Washington, DC.
6. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; proposed guideline. 3rd edition. CLSI document C28-A3. 2008, Wayne, Clinical Laboratory Standards Institute.
7. David AC, Lianna K, Man KC, Caitlin HD, Davor B, Allison AV, et al. Closing the Gaps in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. *Clin Chem*. 2012, 58:854-868.
8. DGKC (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie), Working Group on Enzymes. Proposal of standard methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37°C. I. Alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1992, 30:247-256.
9. Fischbach F, Zawta B. Age-dependent Reference Limits of Several Enzymes in Plasma at Different Measuring Temperatures. *Klin Lab*. 1992, 38:556-561.
10. Fleisher GA, Eickelberg ES, Elveback LR. Alkaline phosphatase activity in the plasma of children and adolescents. *Clin Chem*. 1977, 23:469-472.
11. Hausamen TU, Helger R, Rick W. Optimal conditions for the determination of serum alkaline phosphatase by a new kinetic method. *Clin Chim Acta*. 1967, 15:241-245.
12. Kaplan MM. Current concepts: Alkaline Phosphatase. *New England J. Med*. 1972, 286:200-202.
13. KAQA (Korean Association of Quality Assurance). <http://www.lab-qa.org/>, last visited on 20 June 2014.
14. Kay HD. Plasma phosphatase in osteitis deformans and in other diseases of the bone. *Br J Exp Pathol*. 1929, 10:253.
15. Kay HD. Plasma phosphatase: I. Method of determination. some properties of the enzyme. *J Biol Chem*. 1930, 89:235-247.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *J Clin Pathol*. 1954, 7:322-326.
17. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J*. 1934, 31:376-381.
18. Kruse K, Bartels H, Gunther H. Serum alkaline phosphatase isoenzymes in childhood. *Eur J Pediatr*. 1977, 126:53-59.
19. Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, Bowers GN Jr, McComb RB. Investigation of N-methyl-D-glucamine buffer for assay of alkaline phosphatase in serum. *Clin Chem*. 1992, 38:2286-2294.
20. Lott JA, Wolf PL. Clinical Enzymology: A Case-Oriented Approach. 1986, p57-74. Year Book Medical, Chicago.
21. Moss DW. A note on the spectrophotometric estimation of alkaline phosphatase activity. *Enzymologia*. 1966, 31:193-202.
22. Penttila IM, Jokela HA, Viitala AJ, Heikkinen E, Nummi S, Pystynen P, et al. Activities of aspartate and alanine aminotransferases and alkaline phosphatase in sera of healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest*. 1975, 35:275-284.
23. Plomteux G, Reginster N. Measurement of the hepatic, intestinal and bony fractions of the serum alkaline phosphatase (author's transl). *Ann Biol Clin (Paris)*. 1980, 38:215-222.
24. Robison R. The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification. *J Biochem*. 1923, 17:286-293.
25. Schiele F, Henny J, Hitz J, Petitclerc C, Gueguen R, Siest G. Total bone and liver alkaline phosphatases in plasma: biological variations and reference limits. *Clin Chem*. 1983, 29:634-641.
26. Shinowara G, Jones LM, Reinhart HL. Estimation of serum inorganic phosphate and "acid" and "alkaline" phosphatase activity. *J Biol Chem*. 1942, 142:921-933.
27. Tietz NW, Burtis CA, Duncan P, Ervin K, Petitclerc CJ, Rinker AD, et al. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin Chem*. 1983, 29: 751-761.
28. Togari A, Sakai J, Matsumoto S, Nagatsu T. Highly sensitive assay for alkaline and acid phosphatase activity by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr*. 1987, 417:41-46.
29. Turan S, Topcu B, Gökçe I, Güran T, Atay Z, Omar A, et al. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011, 3:7-11.