トレーニングによるラット骨格筋および心室筋 creatine kinase isoenzyme composition の変動

山下 勝正* 渡辺 雅之** 吉岡 利忠*

CHANGES IN CREATINE KINASE ISOENZYME COMPOSITIONS OF SKELETAL AND HEART MUSCLES DURING EXERCISE TRAINING IN RATS

KATSUMASA YAMASHITA, MASAYUKI WATANABE and TOSHITADA YOSHIOKA

Abstract

The effect of swimming training on creatine kinase (CK) isoenzyme compositions (cytoplasmic CK : CK-MM, -MB, -BB ; mitochondrial CK : m-CK) of soleus (SOL), extensor digitorum longus (EDL) and heart muscles were studied. Wistar strain male rats were trained by swimming at a water temperature of $38 \pm 2^\circ\text{C}$, loaded with a weight equal to 5% of their body weight attached to their tails, and made to swim 4-days per week from the age of 4 weeks old for 4, 6 and 8 weeks. CK isoenzyme compositions of SOL, EDL and heart were different from those of other muscles. The activities of CK-MB and m-CK of SOL, EDL and heart increased following exercise training. CK isoenzyme composition of skeletal muscle (SOL and EDL) tended to qualitatively resemble the heart with training. These results suggest that the training-induced metabolic change in skeletal muscle causes similar CK isoenzyme composition to the heart muscle, and ensure energy production for the continuous muscle contraction during endurance exercise. The possibility that the source of the increased serum CK-MB activity after exercise is from the skeletal muscle should be examined thoroughly when the high serum CK-MB activity is interpreted.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1990, 39 : 189~197)

key words : creatine kinase isoenzyme, training, skeletal muscle, heart muscle

I. 緒 言

Creatine kinase (CK ; EC 2. 7. 3. 2) は骨格筋及び心室筋細胞内エネルギー代謝において重要な役割を果たしている。CK は可溶性分画に3種類 (CK-MM, -MB, -BB), ミトコンドリア分画に1種類の isoenzyme (m-CK) が存在することが知られている^{8, 17)}。可溶性分画の isoenzyme は臓器特異性が高く CK-MM は主として骨格筋に, CK-MB は心室筋に, CK-BB は脳に最も高濃度に存在している²¹⁾。骨格筋における CK-MB 活性は

心室筋に比して低いことから, 血清中に逸脱した高い CK-MB 活性は心筋梗塞などによる心室筋の損傷の有効な指標として考えられている¹³⁾。

一方, 様々な筋肉運動後に, 血清中の CK-MB 活性の上昇が認められ, その活性値は心筋梗塞患者に認められるレベルを越えることが報告されている^{16, 31)}。CK-MB の高い活性値は骨格筋の赤(遅)筋にも認められ, 心室筋に特異的なものではないことが Rosalki²²⁾ によって示された。Apple et al.⁸⁾ は, マラソンレース後に骨格筋の CK-MB 活性および血清中の CK-MB 活性が共に上昇す

*聖マリアンナ医科大学第二生理学教室
〒213 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1

**東京学芸大学運動生理学教室
〒184 東京都小金井市貫井北町4-1-1

Department of Physiology, St. Marianna University School of
Medicine, 2-16-1 Sugao, Miyamae, Kawasaki, Kanagawa 213,
Japan

Department of Exercise Physiology, Tokyo Gakugei University,
4-1-1 Nukuihita, Koganei, Tokyo 184, Japan

ることから, 運動後認められる血清中の CK-MB は骨格筋由来である可能性を報告している. さらに持久的トレーニングは骨格筋 CK-MB 活性の上昇を引き起こし, その活性値は心室筋レベルにまで到達することが報告されている¹⁴⁾.

トレーニングによる骨格筋 CK isoenzyme composition の適応変化に関する報告は少なく⁴⁾, 明確な見解は得られていない. 各 CK isoenzyme は反応特性および存在部位が異なる³⁶⁾ことが, トレーニングによる CK isoenzyme composition の適応変化に関与していると考えられる. また心室筋 CK isoenzyme composition に及ぼすトレーニングの影響についての報告はみられない.

そこで本研究では, 筋収縮エネルギー供給の観点から骨格筋および心室筋 CK isoenzyme composition に及ぼすトレーニングの影響について検討を行った.

II. 方 法

A. 実験動物およびトレーニングプログラム

実験動物には生後3週齢より飼育を開始した Wistar 系雄性ラット18匹を用いた. 1週間の予備飼育後, 全てのラットは水泳運動に慣れさせるために1週間の予備トレーニング(水泳時間; 0, 5, 15, 30分, 負荷重量; 0 g)を行わせた後, 各群の体重が等しくなるようにトレーニング(T)群お

よび対象(C)群の2群に分類した. 引続き, T群は水泳トレーニングを開始した. 水槽は縦400 mm, 横300 mm, 高さ600 mmのポリ製の容器であり, 1つの水槽に1匹で水泳を行わせた. なお水温は 38 ± 2 °Cとした. 運動強度は, 運動継続時間および尾におもりを付けることにより¹⁰⁾1週間漸次増加させ, 水泳時間30分, 負荷重量は体重当り5%を一定負荷とし, 以後7週間にわたりトレーニングを行わせた(Fig. 1), 運動負荷は生体リズムを考慮し, ラットの活動時間と思われる午後7時から午後10時の間に行った. 水および飼料は24時間自由摂取とした.

B. 測定試料

トレーニング開始4, 6, 8週目(4 wks, 6 wks, 8 wks)に, T群およびC群共に3匹ずつ実験に供した. T群のラットは最終トレーニング終了48時間後に試料の摘出を行った. 全てのラットは sodium-pentobarbital 麻酔下(i. p.)にて, 両下肢のひらめ筋(SOL), 長趾伸筋(EDL)および心室筋(Heart)を摘出した. 右下肢の SOL および EDL は creatine kinase (CK) 活性およびその isoenzyme の分析に, 左下肢を解糖系酵素である phosphofructokinase (PFK) および酸化系酵素である succinate dehydrogenase (SDH) の分析に用いた. Heart は左心室部を用い, それより全ての分析を行った.

Fig. 1. Progressive control and swimming training programs.

C. 分析方法

筋肉は摘出後即座にホモジナイズ後、冷却遠心分離した上清を分析に用いた。CK isoenzyme の分析は, Saks et al. の方法²⁴⁾により抽出を行い, m-CK の分離は phenyl Sepharose CL-4 B (Pharmacia 社製) を用いた hydrophobic interaction column chromatography³⁷⁾により行い、活性値および総 CK 活性に対する比(%m-CK)によって示した。CK-MM, -MB, -BB の分画は Mercer の方法²⁰⁾によるイオン交換 column chromatography

(Sephadex A-50 : Pharmacia 社製) により行い、それぞれ総 CK 活性に対する比(%CK-MM, -MB, -BB)によって示した。各分画の活性値および総 CK 活性値の定量は GSCC (ドイツ臨床化学会) 準拠法により行った。PFK 活性値の定量は Shonk and Boxer の方法³⁰⁾に基づき行い、SDH 活性値の定量は Cooperstain et al. の方法⁹⁾に基づき行った。タンパクの定量は Lowry et al. の方法¹⁸⁾ および Biuret 法¹²⁾により行った。総 CK, CK-MM, m-CK, SDH および PFK 活性値は

Fig. 2. The activities of succinate dehydrogenase (SDH) and phosphofructokinase (PFK) in heart (Heart), soleus (SOL) and extensor digitorum longus (EDL) muscles at 4, 6 and 8 weeks after training in control (C) and training (T) groups. Values are means with standard deviations. Significant level; *: $p < 0.05$.

international unit(IU)/mg protein で表示した.

なおすべての測定値の差の検定は student-t-test を用いて行い, 危険率5%以下をもって有意とした.

III. 結 果

両群ラットの体重は加齢と共に漸増し, トレーニング終了時にはC群 (529.67 ± 17.25) とT群

(442.67 ± 23.49) の間に有意な差が認められた($p < 0.05$).

Fig. 2 に各筋肉における SDH および PFK 活性の変化を示した. SDH 活性は, トレーニングにより上昇する傾向が Heart, SOL および EDL において認められ, 8 wks ではT群が有意に高値を示した($p < 0.05$). 8週間にわたるトレーニングに対する適応変化の過程は各筋肉により異なること

Fig. 3. Total creatine kinase (CK) activities of Heart, SOL and EDL at 4, 6 and 8 weeks in C and T groups. Values are means with standard deviations. Significant level; *: $p < 0.05$. Abbreviations are the same as in Fig. 1.

Fig. 4. Mitochondrial creatine kinase (m-CK) activities of Heart, SOL and EDL at 4, 6 and 8 weeks in C and T groups. Values are means with standard deviations. Significant level; *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$. Abbreviations are the same as in Fig. 1.

が示された。PFK 活性は両群間に有意差は認められなかった。持久的トレーニングにより酸化系酵素活性の上昇が引き起こされることから^{15,33)}、本研究で用いたトレーニングプログラムが持久的性

格を持つものであったことが示唆される。

各筋肉における総 CK 活性の変化を Fig. 3 に示した。筋肉別では、EDL, SOL, Heart の順に高値を示した。トレーニングの影響は SOL において顕著に認められ、6 wks ($p<0.05$) および 8 wks ($p<0.05$) では T 群が有意に低値を示した。

Fig. 4 に各筋肉における m-CK 活性の変化を示した。筋肉別の活性値は、Heart, SOL, EDL の順に高値を示した。トレーニングにより m-CK 活性は上昇する傾向を示し、4 wks において EDL ($p<0.05$), 8 wks において Heart ($p<0.01$) および SOL ($p<0.01$) それぞれ T 群が有意に高値を示した。

Fig. 5 に各筋肉における CK isoenzyme composition の変化を示した。Heart, SOL および EDL において CK-MM, MB, BB, m-CK の 4 つの isoenzyme が存在していることが示された。トレーニングにより Heart, SOL および EDL の CK-MM 活性は低下し、CK-MB 活性は上昇する傾向が認められた (Table 1)。CK-BB 活性は、Heart, SOL および EDL において大きな変動を示した。

IV. 考 察

持久的トレーニングにより引き起こされる骨格筋 CK isoenzyme composition 変化を検討した研究^{2,3)}によれば、総 CK 活性の変動は生じない

Fig. 5. Creatine kinase (CK) isoenzyme compositions (%) of Heart, SOL and EDL at 4, 6 and 8 weeks. Abbreviations are the same as in Fig. 1.

Table 1. Creatine kinase-MB (CK-MB) activities of muscles.

	n	Heart	SOL	EDL
4 wks				
Training	3	1.09±0.16	1.11±0.21	1.98±0.45
Control	3	1.08±0.11	0.57±0.37	0.63±0.21
6 wks				
Training	3	1.27±0.34	1.66±0.34	2.88±0.58
Control	3	0.66±0.34	0.43±0.20	0.91±0.34
8 wks				
Training	3	0.82±0.25	0.85±0.33	3.12±0.78
Control	3	0.72±0.26	0.37±0.06	2.76±0.77

Units : IU/mg protein

Heart, heart muscles; SOL, soleus muscles; EDL, extensor digitorum longus muscles. Values are expressed mean±S.D. Significant level, *: $p<0.05$.

が, CK-MB 活性の上昇がみられるとされている。さらに, トレーニング¹⁾ および慢性的な電気刺激²⁷⁾により骨格筋 m-CK 活性が上昇することも報告されている。本研究においても, トレーニングにより SOL および EDL の CK-MB, および m-CK 活性の上昇が認められ, この傾向は SOL に顕著であった。また心室筋 CK isoenzyme composition にも骨格筋と同様の変化が認められた。

トレーニングによって引き起こされる CK-MB 活性上昇の機序に関して明確な知見は得られていない。発生学的に CK は B-subunit から発現し, CK-BB, CK-MB を経て CK-MM へと変換することが報告されている²³⁾。Acros et al.⁵⁾ は, トレーニングに伴い, ミトコンドリアなどの筋構造崩壊および酸化系酵素活性の低下が一時的に認められることを報告している。したがって, トレーニングによる CK-MB および CK-BB 活性上昇の一部は, 筋線維の崩壊・再生過程²⁴⁾を反映したものであろう。また, 犬の心臓に ischemia が生じた場合, 5 時間以内に心室筋 CK-MB 活性が上昇することから²⁹⁾, 細胞内環境に鋭敏に反応して, その活性を調節しているとも考えられる。

トレーニングによって引き起こされる CK-MB 活性の上昇は, CK-MM 活性の低下を伴うことが示された。筋細胞内において CK-MM は筋原線維および筋小胞体などの膜に結合し³⁵⁾, ATPase と共役して興奮収縮・弛緩サイクルで利用された ATP を phosphocreatine (PCr) から再合成している⁷⁾。トレーニングにより CK-MM 蛋白量および結合部位の減少, あるいは触媒能の低下が生じたとは考えにくいことから, CK-MM からより ATP 合成能の優れた³⁸⁾ CK-MB への変換が生じたのかもしれない。

m-CK はミトコンドリア内膜外側に結合し²⁸⁾, 酸化的磷酸化によって生成される ATP と共役し, PCr を合成し細胞質中にエネルギーを放出している¹¹⁾。m-CK 活性は citrate synthase 活性と正の相関関係にあり, 組織の酸化的代謝能力の指標となり得ることが報告されている³²⁾。本研究でも Heart, SOL, EDL の順に高値を示し, m-CK 活性は筋肉のミトコンドリア容量および酸化的代謝

能力を反映していることが示唆された。本研究で認められた m-CK 活性の大きな変動は m-CK 活性が, 細胞内蛋白, nucleotide 濃度, イオン強度および pH などの種々の細胞内環境に大きく影響されるためと考えられる^{26, 36)}。

CK-BB は, 心室筋および骨格筋には存在しないと考えられていた³²⁾。本研究では, 対照群およびトレーニング群の心室筋, SOL および EDL から CK-BB が検出された。CK-BB は脳および神経細胞に存在する²¹⁾ことから, 筋線維間を進む神経あるいは神経筋接合部に存在しているものを反映していると考えられる。

骨格筋は収縮および代謝特性の異なる筋線維から構成されている¹⁵⁾。収縮特性の異なる筋線維では CK isoenzyme composition が異なることが報告されており^{4, 14)}, 本研究の結果と一致する。さらに本研究では, SOL および EDL における CK isoenzyme composition のトレーニングに対する適応変化も異なることが示された。竹倉と吉岡³⁴⁾ は, トレーニングに対する適応変化は筋線維タイプにより異なることを報告している。またトレーニングによる筋線維構成が変化することも報告³³⁾されており, 筋線維レベルでのより詳細な検討が必要であると考えられる。

心室筋においては CK isoenzyme によるエネルギー輸送・分配システムである PCr shuttle が存在することが報告されている⁶⁾。PCr shuttle により効率的な ATP の利用と供給が行われ, 心室筋における継続的な筋収縮を保証していると考えられている²⁵⁾。骨格筋における PCr shuttle の可能性を検討した報告は少なく¹⁰⁾, 明確な見解は得られていない。本研究では, 骨格筋 CK isoenzyme composition の適応変化は, m-CK, CK-MB 活性上昇による, 心室筋への類似化であることが示された。トレーニングにより骨格筋は, 継続的な筋収縮に必要な ATP 供給を保証する心室筋に似た CK isoenzyme composition を獲得するのではないだろうか。

トレーニングにより骨格筋 CK-MB 活性の上昇が引き起こされることが確認された。血清中の CK-MB 活性を測定していないので断定はできな

いが、鍛錬されたスポーツ選手に認められる運動後の高い血清中 CK-MB 活性は、骨格筋から逸脱したものである可能性³⁾ が本研究の結果から支持される。しかし、心室筋からの逸脱が全く関与していないとは考えにくく、心室筋および骨格筋の両者からの逸脱によるものであると考えられる。

V. 結 論

骨格筋および心室筋 CK isoenzyme composition に及ぼすトレーニングの影響について検討を行い、以下に示す知見を得た。

1. SOL, EDL および Heart における CK isoenzyme composition はそれぞれ異なることが示された。

2. トレーニングにより SOL, EDL および Heart において CK-MB および m-CK 活性の上昇が認められた。

3. SOL および EDL における CK isoenzyme composition はトレーニングにより心室筋に類似化する傾向を示した。この傾向は SOL において顕著に認められた。

以上の結果より、トレーニングにより骨格筋は、継続的な筋収縮に耐え得る十分な ATP 供給を保証する心室筋と良く似た CK isoenzyme composition を獲得することが示唆された。また、運動後の血清中の高い CK-MB 活性を解釈する際には、心室筋だけではなく骨格筋からの逸脱の可能性について十分な検討が必要であろう。

(受付 平成元年11月29日)

参 考 文 献

- 1) Apple, F. S. and Rogers, M. A. (1986) : Mitochondrial creatine kinase activity alterations in skeletal muscle during long-distance running. *J. Appl. Physiol.*, **62**, 482-485.
- 2) Apple, F. S., Rogers, M. A., Sherman, W. M., Costill, D. L., Hagerman, F. C. and Ivy, J. L. (1984) : Profile of creatine kinase isoenzymes in skeletal muscles of marathon runners. *Clin. Chem.*, **30**, 413-416.
- 3) Apple, F. S., Rogers, M. A., Casal, D. C., Sherman, W. M. and Ivy, J. L. (1985) : Creatine kinase-MB isoenzyme adaptations in stressed human skeletal muscle of marathon runners. *J. Appl. Physiol.*, **59**, 149-153.
- 4) Apple, F. S. and Tesch, P. A. (1989) : CK and LD isoenzymes in human single muscle fibers in trained athletes. *J. Appl. Physiol.*, **66**, 2717-2720.
- 5) Arcos, J. C., Sohal, R. S., Sun, S. C., Argus, M. F. and Burch, G. E. (1968) : Changes in ultrastructure and respiratory control in mitochondria of rat heart hypertrophied by exercise. *Exp. Mol. Pathol.*, **8**, 49-63.
- 6) Bessman, S. P. and Geiger, P. J. (1981) : Transport of energy in muscle. The phosphorylcreatine shuttle. *Science*, **211**, 448-452.
- 7) Bessman, S. P., Yang, W. C. T., Geiger, P. J. and Erickson-Viitanen, S. (1980) : Intimate coupling of creatine phosphokinase and myofibrillar adenosine-triphosphatase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96**, 1414-1420.
- 8) Brussel, E. V., Yang, J. J. and Seraydarian, M. W. (1983) : Isoenzymes of creatine kinase in mammalian cell cultures. *J. Cell. Physiol.*, **116**, 221-226.
- 9) Cooperstein, S. J., Lazarow, A. and Kurfess, N. J. (1950) : A microspectrophotometric method for the determination of succinic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **186**, 129-139.
- 10) Feedback, D. L., Locklear, I. and Brumback, R. A. (1988) : Metabolic myopathy produced by dinitrofluorobenzene inhibition of creatine phosphokinase. *J. Neurol. Sci.*, **88**, 219-228.
- 11) Gellerich, F. and Saks, V. A. (1982) : Control of heart mitochondrial oxygen consumption by creatine kinase. The importance of enzyme localization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **105**, 1473-1481.
- 12) Gornall, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M. (1949) : Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751-766.
- 13) Hortobagyi, T. and Denahan, T. (1989) : Variability in creatine kinase. Methodological, exercise, and clinically related factors. *Intl. J. Sports Med.*, **10**, 69-80.

- 14) Jansson, E. and Sylven, C. (1985) : Creatine kinase MB and citrate synthase in type I and type II muscle fibers in trained and untrained men. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **54**, 207-209.
- 15) 勝田 茂, 田中 守 (1983) : トレーニングによる筋の組織化学的变化. *J. J. Sports Sci.*, **2**, 2-11.
- 16) Kirwan, J. P., Clarkson, P. M., Graves, J. E., Litchfield, P. L. and Byrnes, W. C. (1986) : Levels of serum creatine kinase and myoglobin in women after two isometric exercise conditions. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **55**, 330-333.
- 17) Lang, H. and Wurzburg, U. (1982) : Creatine kinase, an enzyme of many forms. *Clin. Chem.*, **28**, 1439-1447.
- 18) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- 19) McArdle, W. D. (1967) : Metabolic stress of endurance swimming in the laboratory rat. *J. Appl. Physiol.*, **22**, 50-54.
- 20) Mercer, D. W. (1974) : Separation of tissue and serum creatine kinase isoenzymes by ion-exchange column chromatography. *Clin. Chem.*, **20**, 36-40.
- 21) Neumeier, D. (1981) : Tissue specific and sub-cellular distribution of creatine kinase isoenzymes. In, Lang, H., *Creatine kinase isoenzymes*, Springer Verlag. New York, 85-109.
- 22) Rosalki, S. B. (1965) : Creatine kinase isoenzymes. *Nature (London)*, **207**, 414-415.
- 23) Sadeh, M., Stern, L. Z., Czyzewski, K., Finley, P. R. and Russell, D. H. (1984) : Alterations in creatine kinase, ornithine decarboxylase and transglutaminase during muscle regeneration. *Life Sci.*, **34**, 483-488.
- 24) Saks, V. A., Chernousova, G. B., Voronkov, I. I., Smirnov, V. N. and Chazov, E. I. (1974) : Study of energy transport mechanism in myocardial cells. *Circ. Res.* **34-35** (Suppl. III), 138-149.
- 25) Saks, V. A., Rosensthtaukh, L. V., Smirnov, V. N. and Chazov, E. I. (1978) : Role of creatine phosphokinase in cellular function and metabolism. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **56**, 691-706.
- 26) Schlegel, J., Zurbriggen, B., Wegmann, G., Wyss, M., Eppenberger, H. M. and Wallimann, T. (1988) : Native mitochondrial creatine kinase forms octameric structures. I. Isolation of two interconvertible mitochondrial creatine kinase forms, dimeric and octameric mitochondrial creatine kinase. Characterization, localization, and structure-function relationships. *J. Biol. Chem.*, **263**, 16942-16953.
- 27) Schmitt, T. and Pette, D. (1985) : Increased mitochondrial creatine kinase in chronically stimulated fast-twitch rabbit muscle. *FEBS Lett.*, **188**, 341-344.
- 28) Scholte, H. R., Weijers, P. J. and Wit-Peeters, E. M. (1973) : The localization of creatine kinase, and its use for the determination of the sidedness of submitochondrial particles. *Biochim. Biophys. Acta* **291**, 764-773.
- 29) Sharkey, S. W., Elsperger, K. J., Murakami, M. and Apple, F. S. (1989) : Canine myocardial creatine kinase isoenzyme response to coronary artery occlusion. *Am. J. Physiol.*, **256** (Heart Circ. Physiol. 25), H 508-H 514.
- 30) Shonk, C. E. and Boxer, G. E. (1964) : Enzyme patterns in human tissues. I. Methods for the determination of glycolytic enzymes. *Cancer Res.*, **24**, 709-721.
- 31) Staubli, M., Roessler, B., Kochli, H. P., Peheim, E. and Straub, P. W. (1985) : Creatine kinase and creatine kinase MB in endurance runners and in patients with myocardial infarction. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **54**, 40-45.
- 32) Sylven, C., Jansson, E., Kallner, A. and Book, K. (1984) : Human creatine kinase. Isoenzymes and logistics of energy distribution. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **44**, 611-615.
- 33) 竹倉宏明, 田中弘之, 小野三嗣, 春日規克 (1985) : ラット骨格筋線維のトレーニング効果に関する研究—組織化学的, 生化学的手法を用いての検討—. *体力科学*, **34**, 276-283.
- 34) 竹倉宏明, 吉岡利忠 (1988) : 走運動は3種類のラット骨格筋単一筋線維に異なる代謝および超微形態的变化をもたらす. *体力科学*, **37**, 308-316.
- 35) Turner, D. C., Wallimann, T. and Eppenberger, H. M. (1973) : A protein that binds specifically

- to the M-line of skeletal muscle is identified as the muscle form of creatine kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70**, 702-705.
- 36) Walliaman, T., Schnyder, T., Schlegel, J., Wyss, M., Wegman, G., Rossi, A. -M., Hemmer, W., Eppenberger, H. M. and Quest, A. F. G. (1989) : Muscle energetic. In., Paul, R. J., Elzinga, G. and Yamada, K., *Progress in clinical and biological research*, Alan R. Liss. New York, 159-176.
- 37) Weselakc, R. J. and Jacobs, H. K. (1983) : Separation of cytoplasmic and mitochondrial isoenzymes of creatine kinase by hydrophobic interaction chromatography. *Clin. Chim. Acta*, **134**, 357-361.
- 38) Witteveen, S. A. G. J., Sobel, B. E. and DeLuca, M. (1974) : Kinetic properties of the isoenzymes of human creatine phosphokinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 1384-1387.