

ผลของการเสริม โปรตีนเวย์ต่อสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ในผู้ป่วยนอกโรคเบาหวาน
ชนิดที่ 2 ณ ศูนย์บริการสาธารณสุข 66 สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร



นางสาวชลัฎกร วราสิทธิพนธ์

ชำนาญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอาหารเคมีและ โภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



EFFECT OF WHEY PROTEIN SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY
MEDIATORS IN TYPE-2 DIABATIC OUTPATIENTS AT PUBLIC
HEALTH CENTER 66, HEALTH DEPARTMENT, BANGKOK
METROPOLITAN ADMINISTRATION

Miss Chalaikorn Warasitthinon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Food Chemistry and Medical Nutrition
Department of Food and Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2009
Copyright of Chulalongkorn University

522125

Thesis Title	EFFECT OF WHEY PROTEIN SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MEDIATORS IN TYPE-2 DIABATIC OUTPATIENTS AT PUBLIC HEALTH CENTER 66, HEALTH DEPARTMENT, BANGKOK METROPOLITAN ADMINISTRATION
By	Miss Chalaikorn Warasitthinon
Field of Study	Food Chemistry and Medical Nutrition
Thesis Advisor	Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....*Pintip Pongpetch*..... Dean of the Faculty of
Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Pintip Pongpetch, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

.....*Linna Tongyonk*..... Chairman
(Assistant Professor Linna Tongyonk, D.Sc.)

.....*Kulwara Meksawan*..... Thesis Advisor
(Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.)

.....*Oranong Kangsadalampai*..... Thesis Co-Advisor
(Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.)

.....*Suyanee Pongthananikorn*..... Examiner
(Assistant Professor Suyanee Pongthananikorn, Dr.P.H.)

.....*Chitralada Butrangamdee*..... External Examiner
(Miss Chitralada Butrangamdee, M.D.)

ชลัฎกร วราสัทธินันท์ : ผลของการเสริมโปรตีนเวย์ต่อสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในผู้ป่วยนอกโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ณ ศูนย์บริการสาธารณสุข 66 สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร. EFFECT OF WHEY PROTEIN SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MEDIATORS IN TYPE-2 DIABATIC OUTPATIENTS AT PUBLIC HEALTH CENTER 66, HEALTH DEPARTMENT, BANGKOK METROPOLITAN ADMINISTRATION อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ดร. กุลวรา เมฆสุวรรณค์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.ดร. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ, 131 หน้า.

การวิจัยนี้เป็นแบบเชิงกึ่งทดลอง เพื่อศึกษาผลของการเสริมโปรตีนเวย์ต่อสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในผู้ป่วยนอกโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ณ ศูนย์บริการสาธารณสุข 66 โดยมีระยะเวลาในการศึกษาทั้งหมด 10 สัปดาห์ แบ่งเป็นช่วงก่อนการทดลอง 4 สัปดาห์ และช่วงการทดลอง 6 สัปดาห์ มีอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 36 คน โดยถูกแบ่งแบบสุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโปรตีนเวย์ไอโซเลต (ได้รับการเสริมโปรตีนเวย์ไอโซเลตวันละ 30 กรัม) และกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับการเสริมโปรตีนเวย์ไอโซเลต) อาสาสมัครทุกคนได้รับการวัดสัดส่วนของร่างกาย ความดันโลหิต ค่าชีวเคมี และสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ก่อนและหลังสิ้นสุดของช่วงการทดลอง

ผลการศึกษา พบว่าก่อนช่วงเสริมโปรตีนเวย์ไอโซเลต ระดับ hs-CRP ของอาสาสมัครทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับ IL-6 ($r = 0.450, p < 0.01$) อย่างมีนัยสำคัญ ไม่มีความแตกต่างระหว่างสัดส่วนของร่างกาย ความดันโลหิต ค่าชีวเคมี และระดับของสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ของอาสาสมัครในกลุ่มโปรตีนเวย์ไอโซเลตและกลุ่มควบคุมเมื่อเริ่มต้นการศึกษา อย่างไรก็ตามหลังจาก 6 สัปดาห์ของการเสริมโปรตีนเวย์ไอโซเลต พบว่า ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัว คชนิมมวลกาย ความดันโลหิตขณะหลอดเลือดหดตัว และไตรกลีเซอไรด์ของอาสาสมัครในกลุ่มโปรตีนเวย์ไอโซเลตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และระดับของสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่ศึกษา (hs-CRP และ IL-6) มีแนวโน้มลดลงจากค่าเริ่มต้น

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีนเวย์ไอโซเลตอาจมีผลลดการอักเสบในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาต่อไป เพื่อให้ทราบผลที่ชัดเจนของโปรตีนเวย์ต่อภาวะการอักเสบ

ภาควิชา.....อาหารและเภสัชเคมี.....ลายมือชื่อนิติ..... *ชลัฎกร วราสัทธินันท์*
 สาขาวิชา.....อาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์...ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..... *จันทน์*
 ปีการศึกษา ..2552.....ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม..... *อรอนงค์*

##5076558933: MAJOR FOOD CHEMISTRY AND MEDICAL NUTRITION
 KEY WORDS: WHEY PROTEIN/ INFLAMMATORY MEDIATORS/ TYPE 2
 DIABETES/ C-REACTIVE PROTEIN/ INTERLEUKIN-6

CHALAIKORN WARASITTHINON: EFFECT OF WHEY PROTEIN
 SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MEDIATORS IN TYPE-2
 DIABATIC OUTPATIENTS AT PUBLIC HEALTH CENTER 66, HEALTH
 DEPARTMENT, BANGKOK METROPOLITAN ADMINISTRATION.
 THESIS ADVISOR: ASST. PROF. KULWARA MEKSAWAN, Ph.D., THESIS
 CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. ORANONG KANGSADALAMPAI, Ph.D.,
 131 pp.

This quasi-experimental study was conducted to determine the effect of whey protein supplementation on inflammatory mediators in type 2 diabetic outpatients at Public Health Center 66. The duration of the study was 10 weeks with 2 periods: a 4-week pre-experimental period and a 6-week experimental period. Thirty-six subjects participated in this study and were randomly assigned into WPI group (supplemented with 30 g/day of WPI) and control group (no WPI supplementation). Anthropometry, blood pressure, biochemical parameters, and inflammatory mediators were examined in all subjects before and after the experimental period.

The results showed that the levels of high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) significantly correlated with interleukin (IL)-6 ($r = 0.450$, $p < 0.05$) in all subjects at baseline. There were no significant differences in anthropometry, blood pressure, biochemical parameters, and inflammatory mediator levels between the subjects in the WPI and control groups at baseline. However, after 6 weeks of WPI supplementation, the mean body weight, body mass index, systolic blood pressure, triglyceride of the subjects in the WPI group significantly decreased compared with baseline ($p < 0.05$), and the levels of measured inflammatory mediators (hs-CRP and IL-6) tended to decrease from baselines after WPI supplementation.

The study indicated that WPI may ameliorate inflammation in type 2 diabetic patients. However, further studies are required to clarify the immune-modulating effect of whey protein.

Department:Food and Pharmaceutical Chemistry.....Student's Signature: *Chalairkorn*
 Field of Study: ...Food Chemistry and Medical Nutrition..Advisor's Signature: *Kulwara MeksaWAN*
 Academic Year: .2009.....Co-advisor's Signature: *Oranong Kangsadalampai*...

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude and deep appreciation to my advisor, Assistant Professor Dr. Kulwara Meksawan for her invaluable advice, guidance, and encouragement throughout my graduate study. I also wish to express my gratitude to my co-advisor, Associate Professor Dr. Oranong Kangsadalampai for her supportive attitude and constructive criticisms over my thesis.

I am very grateful to Dr. Chitralada Butrangamdee, a physician, Health Center 66, Bangkok Metropolitan Administration, also with Dr. Prasit Pettaveeporndej and all personnels in outpatient department for their helpful cooperation, support and kindness.

A special appreciation is extended to all lectures of the Department of Food and Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

I am duly grateful to my friends at the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University who always cherished in my heart and their timely assistance to overcome all difficulties.

I am really thankful to the Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University for the supporting scholarship which enabled me to undertake this study.

Finally, my special gratitude is expressed to my beloved family for their loves, cares, supports and encouragements throughout the period of my graduate study.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (THAI)	iv
ABSTRACT (ENGLISH)	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
LIST OF ABBREVIATIONS	xii
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
1.1 Background and Significance of the Study.....	1
1.2 Objectives of the Study.....	5
1.3 Benefits of the Study.....	5
II LITERATURE REVIEW	6
2.1 Inflammation.....	6
2.1.1 Acute Inflammatory Response.....	6
2.1.2 Chronic Inflammatory Response.....	7
2.2 Inflammatory Mediators.....	7
2.2.1 Interleukin-6.....	8
2.2.2 C-Reactive Protein.....	10
2.3 Inflammation and Diabetes Mellitus.....	12
2.4 Whey Protein.....	14
2.5 Whey Protein and Immune System.....	20
III MATERIALS AND METHODS	24
3.1 Subjects.....	24
3.2 Experimental Design.....	25
3.3 Experimental Protocol.....	25
3.3.1 Pre-Experimental Period.....	25
3.3.2 Experimental Period.....	26

CHAPTER	Page
3.4 Study Measurements and Data Collection.....	28
3.4.1 Dietary Intake Assessment.....	28
3.4.2 Blood Pressure and Anthropometric Measurement.....	28
3.4.3 Metabolic Syndrome Assessment.....	30
3.4.4 Physical Activity Assessment.....	30
3.5 Blood Sample Collection.....	31
3.5.1 Biochemistry Determination.....	31
3.5.2 Interleukin-6 Analysis.....	31
3.6 Compliance and Adverse Effects of Whey Protein Supplementation.....	32
3.7 Statistical Analysis.....	32
IV RESULTS.....	34
4.1 Characteristics of the Subjects.....	34
4.2 Baseline Clinical Parameters of the Subjects.....	36
4.3 Dietary Intake of the Subjects.....	39
4.4 Anthropometric Measurement of the Subjects.....	41
4.5 Blood Pressure and Biochemical Parameters of the subjects.....	42
4.6 Inflammatory Mediators in Plasma of the Subjects.....	45
4.7 Compliance and Adverse Effects of Whey Protein Supplementation.....	46
V DISCUSSION.....	47
5.1 Baseline Inflammatory mediators of the Subjects.....	47
5.2 Dietary Intake of the Subjects.....	49
5.3 Effect of Whey Protein Supplementation on Inflammatory Mediators.....	49
VI CONCLUSION.....	57
REFERENCES.....	59
APPENDICES.....	74
Appendix A.....	75
Appendix B.....	84

	Page
Appendix C.....	94
Appendix D.....	109
Appendix E.....	111
Appendix F.....	115
BIOGRAPHY.....	131

LIST OF TABLES

TABLE	Page
1 Composition of bovine milk.....	14
2 Concentrations of the major proteins in milk.....	16
3 Amino acid contents of total protein, casein, and whey protein of bovine milk.....	17
4 Types of commercially available whey proteins.....	18
5 Components found in whey protein.....	18
6 Clinical identification of the metabolic syndrome.....	30
7 Characteristics of the subjects.....	35
8 Baseline Clinical Parameters of the Subjects.....	37
9 Partial correlation analysis of inflammatory mediators with variables of the subjects at baseline.....	38
10 Dietary Intake of the subjects at baseline and week 6 of the experimental period.....	40
11 Anthropometry of the subjects at baseline and week 6 of the experimental period.....	41
12 Blood pressure and biochemistry parameters of the subjects at baseline and week 6 of the experimental period.....	43
13 Completed blood count of the subjects at baseline and week 6 of the experimental period.....	44
14 Inflammatory mediators of the subjects at baseline and week 6 of the experimental period.....	46

LIST OF FIGURES

FIGURE		Page
1	Experimental protocol.....	27

LIST OF ABBREVIATIONS

α	alpha
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
ml	microliter
0.314	mathematical constant ($\sim 22/7$)
ACEI	angiotensin converting enzyme inhibitor
ADA	American Diabetes Association
APPs	acute phase proteins
APRs	acute phase reactants
ATP	Adult Treatment Panel
B lymphocyte	bone marrow derived lymphocyte
BCAA	branched chain amino acid
β	beta
BMI	body mass index
BP	blood pressure
BSA	bovine serum albumin
CBC	complete blood cell
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CHO	carbohydrate
cm	centimeter
CRP	C-reactive protein
DBP	diastolic blood pressure
dl	deciliter
DM	diabetes mellitus
DNA	deoxyribonucleic acid
e.g.	<i>exempli gratia</i> (example)
EDTA	ethylene diamine tetra-acetic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	<i>et alia</i> (and others)
FBS	fasting blood glucose

FEV ₁	forced expired volume in 1 second
g	gram
γ	gamma
GMP	glycomacropeptide
GSH	glutathione
Hb	hemoglobin
Hb1Ac	hemoglobin A1c (glycosylated hemoglobin)
Hct	hematocrit
HDL-C	high-density lipoprotein cholesterol
HLA	human leukocyte antigen
hs-CRP	high sensitivity C-reactive protein
HT	hypertension
i.e.	<i>id est</i> (that is)
IFN	interferon
Ig	immunoglobulin
IGT	impaired glucose tolerance
IL	interleukin
ip	intraperitoneal
κ	kappa
kcal	kilocalorie
kg	kilogram
l	liter
LA	lactalbumin
LDL-C	low-density lipoprotein cholesterol
LF	lactoferrin
LG	lactoglobulin
LPS	lipopolysaccharide
m ²	square meter
m ³	cubic meter
MAC	mid-arm circumference
MAMC	mid-arm muscle circumference
MF-WPI	microfiltered-whey protein isolate

mg	milligram
min	minute
ml	milliliter
mmHg	millimeter of mercury
mmol	milimole
mWPC	modified-whey protein concentrate
NCEP	National Cholesterol Education Program
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
NK cell	natural killer cell
nm	nanometer
OGTT	oral glucose tolerance test
pg	pictogram
RBC	red blood cell
RNA	ribonucleic acid
SBP	systolic blood pressure
SEM	standard error of mean
SHR	spontaneously hypertensive rats
T lymphocyte	thymus derived lymphocyte
TC	total cholesterol
TG	triglyceride
Th 1 cytokines	thymus helper 1 cytokines
TNF	tumor necrosis factor
TSF	triceps skinfold
WBC	white blood cell
WHR	waist to hip ratio
WPC	whey protein concentrate
WPH	whey protein hydrolysate
WPI	whey protein isolate