

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОБЕЛКОВОГО РАЦИОНА ПИТАНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ ПЕЧЕНИ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ

Ольга Игоревна Линецкая*, Елена Александровна Нургалева, Эсфирь Исааковна Эткина,
Алла Аркадьевна Фазылова, Зинфира Раисовна Гарипова

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

Поступила 10.10.2017; принята в печать 31.10.2017.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2017-975

Цель. Изучить изменения биохимических параметров сыворотки крови, качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки, кала крыс препубертатного возраста с высокобелковым типом питания и последующей коррекцией пробиотическим препаратом «Нормобакт».

Методы. Для создания модели использовали крыс линии Вистар, получавших высокобелковую пищу (35% общего рациона) в течение 7 нед (первая группа). Второй группе подопытных животных проводили коррекцию препаратом «Нормобакт» длительностью 2 нед. Контрольная группа находилась на сбалансированном типе питания. Биохимические параметры сыворотки крови оценивали с использованием автоматического биохимического анализатора СА-400 (Япония) с жидкими стабильными диагностическими наборами (Diasys, Германия). Для бактериологического исследования проводили забор фекалий, ткани толстой кишки лабораторных животных.

Результаты. У животных на фоне высокобелковой диеты биохимические параметры сыворотки крови характеризовались высокими показателями аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, общего белка, триглицеридов в сравнении с контролем, а содержание холестерина и Апо-А1-протеина, напротив, снижалось. В микрофлоре толстой кишки и кала уровень условно-патогенной микрофлоры оставался неизменным, показатели *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* были достоверно ниже соответствующих значений контрольной группы. Коррекция препаратом «Нормобакт» приводила к достоверному снижению показателей аспартатаминотрансферазы, общего белка и глюкозы в сыворотке крови. Кроме этого, в микробиоте толстой кишки и кала уровень условно-патогенной микрофлоры снижался до нуля, однако достоверно повышалось содержание *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* в сравнении с группой крыс без коррекции биотиком.

Вывод. Высокобелковая диета оказывает негативное воздействие на функциональную способность печени, вызывая повышение активности аминотрансфераз, изменение показателей холестерина и белкового обмена, сопровождается изменениями микробиоты кишечника и кала; использование препарата «Нормобакт» способствует нормализации показателей; на фоне увеличения содержания *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* деградируют количественные показатели условно-патогенной микрофлоры

Ключевые слова: высокобелковое питание, биохимический профиль сыворотки крови, микробиота кишечника и кала, пробиотики, функции печени.

INFLUENCE OF HIGH-PROTEIN DIET ON THE FUNCTIONAL ABILITY OF THE LIVER IN RATS AND CORRECTION POSSIBILITIES

O.I. Linetskaya, E.A. Nurgaleeva, E.I. Etkina, A.A. Fazylova, Z.R. Garipova
Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Aim. To study the changes of biochemical parameters of blood serum, the qualitative and quantitative composition of the large intestinal microbiota, the feces of prepubertal rats with a high-protein type of nutrition and following correction with the probiotic «Normobakt».

Methods. To create a model, Wistar rats were used, who received a high-protein diet (35% of the total diet) for 7 weeks (group 1). The second group of laboratory animals received «Normobakt» preparation for 2 weeks. The control group was on a balanced diet. Biochemical parameters of blood serum were evaluated using an automatic biochemical analyzer CA-400 (Japan) with liquid stable diagnostic kits (Diasys, Germany). For bacteriological study, samples of feces and large intestine tissues of the laboratory animals were obtained.

Results. In animals receiving a high protein diet, the biochemical parameters of blood serum were characterized by high levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, total protein, triglycerides compared to the control group, and by contrast, concentration of cholesterol and Apo-A1-protein was decreased. In the microflora of the large intestine and feces, the level of opportunistic microflora remained unchanged, levels of *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus spp.* were significantly lower than those of the control group. Correction with the «Normobakt» preparation led to a significant decrease of the levels of aspartate aminotransferase, total protein and glucose in the blood serum. Moreover, in microbiota of the large intestine and feces, the level of opportunistic microflora reduced to zero, but the concentration of *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* significantly increased in comparison with the rat group without biotic correction.

Conclusion. High-protein diet has a negative effect on the functional ability of the liver, causing an increase of aminotransferase activity, changes in cholesterol and protein metabolism, accompanied by changes of the intestine and feces microbiota; use of the drug «Normobakt» promotes normalization of the parameters; on the background of increasing levels of *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* quantitative parameters of opportunistic microflora decrease.

Keywords: high-protein nutrition, biochemical serum profile, microbiota of large intestine and feces, probiotics, liver functions.

В последнее время широкое распространение получила диета с высоким содержанием белка, которую часто рекомендуют для питания пациентам, страдающим ожирением, а также в спортивной медицине с целью снижения массы тела и наращивания мышечной массы [1].

Результаты ряда исследований о влиянии диеты с высоким содержанием белка на показатели метаболического профиля не демонстрируют значительных её преимуществ по сравнению с другими методами коррекции [2]. Однако другие исследователи, напротив, отмечают эффективность высокобелковой диеты в нормализации ряда параметров метаболического синдрома, включая гомеостаз глюкозы [3].

Диетические белки растительного или животного происхождения представляют собой крупные макроэлементы биомолекул, состоящие из одной или нескольких длинных цепей аминокислотных остатков (полипептидов), необходимых для жизнеобеспечения, включая катализ метаболических реакций, репликацию дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), транспортировку молекул [4]. Печёночные клетки являются мишенями для поражения при избыточном потреблении белковых компонентов, которые всасываются через слизистую оболочку кишечника и, быстро достигая печени через портальную вену, увеличивают массу печени, повышают активность печёночных ферментов, патологически изменяют её гистоархитектуру, провоцируя эффект гепатотоксичности у здоровых крыс и крыс с диабетом [5].

Кроме того, известно, что диета — основной фактор, влияющий на изменения в микробиоте кишечника, роль которой в нормализации параметров метаболического синдрома широко обсуждают [6]. Однако в литературе мало работ, характеризующих

изменения микробиоты на фоне применения высокобелковых диет, что делает необходимым проведение дополнительных биохимических и микробиологических экспериментальных исследований.

Целью данной работы стало изучение изменений биохимических параметров сыворотки крови, качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки и кала крыс препубертатного возраста с высокобелковым типом питания и последующей коррекцией препаратом «Нормобакт».

Для создания модели использованы лабораторные крысы линии Вистар, получавшие пищу, богатую белком (35% общего рациона) [7]. После появления потомства крысята были разделены на две группы (грудное вскармливание лабораторных крыс продолжалось 14–16 дней). В течение 7 нед первая группа получала пищу с высоким содержанием белка, а во второй группе на фоне такого же питания проводили коррекцию препаратом «Нормобакт» в течение 2 нед. В состав препарата входят штаммы живых бактерий *Lactobacillus acidophilus LA-5* и *Bifidobacterium BB-12Y* в соотношении 1:1. Контрольная группа животных того же возраста находилась на сбалансированном типе питания. В каждой группе содержалось по 10 крыс.

Исследования выполнены в соответствии с требованиями правил проведения работ с экспериментальными животными, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинской декларации.

Выведение крыс из эксперимента производили при достижении ими препубертатного периода (6–7 нед) путем декапитации под эфирным наркозом. Для оценки биохимических параметров сыворотки крови использовали автоматический биохимический

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови крыс с белковым типом питания и последующей коррекцией препаратом «Нормобакт»

Показатель	Контроль	Первая группа	Вторая группа	p ₁	p ₂	p ₃
Общий белок, г/л	63,05 [61,80–63,60]	88,65 [85,70–91,50]	86,15 [84,60–87,40]	0,0001	0,0493	0,0001
Глюкоза, ммоль/л	6,99 [6,70–7,10]	6,65 [6,30–7,00]	6,15 [5,50–6,40]	0,1619	0,0172	0,0017
Аланинаминотрансфераза, ЕД/л	47,5 [45,00–50,00]	55,5 [51,00–58,00]	54 [52,00–57,00]	0,0045	0,6231	0,0045
Аспаратаминотрансфераза, ЕД/л	172 [166,00–189,00]	214,5 [196,00–236,00]	193,5 [191,00–195,00]	0,0005	0,0065	0,0031
Холестерин, ммоль/л	1,75 [1,60–2,10]	1,4 [1,40–1,50]	1,5 [1,40–1,60]	0,0155	0,1987	0,0493
Триглицериды, ммоль/л	0,955 [0,920–0,970]	1,015 [0,980–1,080]	0,995 [0,980–1,000]	0,0028	0,3447	0,0036
Апо-А1-протеин, г/л	0,045 [0,04–0,05]	0,03 [0,03–0,04]	0,04 [0,03–0,05]	0,014	0,1404	0,3257
Апо-В-протеин, г/л	0,02 [0,02–0,02]	0,02 [0,01–0,03]	0,025 [0,02–0,03]	0,8501	0,4726	0,2899
Липопротеины высокой плотности, ммоль/л	1,01 [0,98–1,04]	1,02 [1,01–1,04]	1,055 [1,05–1,07]	0,9097	0,014	0,0045
Липопротеины низкой плотности, ммоль/л	0,665 [0,66–0,67]	0,67 [0,66–0,68]	0,665 [0,66–0,68]	0,6231	0,3074	0,7623
Коэффициент атерогенности	0,7 [0,70–0,80]	0,7 [0,70–0,80]	0,7 [0,70–0,70]	0,7054	0,7054	0,4496

Примечание: *p₁ — статистическая значимость различий показателей первой группы и контрольной; **p₂ — статистическая значимость различий показателей первой и второй групп; ***p₃ — статистическая значимость различий показателей второй и контрольной групп.

Таблица 2

Состояние микробиоценоза толстой кишки крыс подросткового возраста при белковом типе питания и последующей коррекции препаратом «Нормобакт»

Представители микробиоты	Контрольная группа, Lg КОЕ/г	Группа с белковым питанием, Lg КОЕ/г	Группа, получавшая белковое питание и «Нормобакт», Lg КОЕ/г
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,30±0,21	2,30±0,58	0
<i>Candida spp.</i>	2,30±0,26	2,47±0,41	0
<i>Clostridium spp.</i>	2,30±0,22	2,30±0,63	0
<i>Bifidobacterium spp.</i>	10,60±0,41	8,9±0,52*	10,95±0,68^^^
<i>Lactobacillus spp.</i>	5,70±0,54	4,84±0,50*	5,95±0,63^^^

Примечание: статистическая значимость различий с группой контроля — *p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01; ***p ≤ 0,001; статистическая значимость различий в группах с белковым типом питания и коррекцией препаратом «Нормобакт» — ^p ≤ 0,05; ^^p ≤ 0,01; ^^p ≤ 0,001; результаты представлены в виде (M±m).

Таблица 3

Состояние микробиоты кала крыс подросткового возраста при белковом типе питания и последующей коррекции препаратом «Нормобакт»

Микробиота	Контрольная группа, Lg КОЕ/г	Группа с белковым питанием, Lg КОЕ/г	Группа, получавшая «Нормобакт», Lg КОЕ/г
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,30±0,15	4,04±0,25	0
<i>Candida spp.</i>	3,32±0,19	2,47±0,71	0
<i>Clostridium spp.</i>	2,47±0,30	2,70±0,34	0
<i>Bifidobacterium spp.</i>	11,00±0,18	9,00±0,59***	10,84±0,71**
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,60±0,27	4,44±0,46*	6,91±0,68^^^

Примечание: статистическая значимость различий с группой контроля — *p ≤ 0,05; **p ≤ 0,01; ***p ≤ 0,001; статистическая значимость различий в группах с белковым типом питания и коррекцией препаратом «Нормобакт» — ^p ≤ 0,05; ^^p ≤ 0,01; ^^p ≤ 0,001; результаты представлены в виде (M±m).

анализатор СА-400 (производство FURUNO ELECTRIC CO., LTD, Япония) с жидкими стабильными диагностическими наборами (Diasys, Германия) для определения триглицеридов, липопротеинов высокой плотности, липопротеинов низкой плотности, Апо-А1-протеина, Апо-В1-протеина. Вычисляли коэффициент атерогенности.

Для бактериологического исследования проводили забор фекалий, ткани толстой кишки лабораторных животных, готовили разведения в соответствии с методическими указаниями [8]. Затем разведения высевали на селективные и дифференциально-диагностические питательные среды: Блаурокка, МРС-4, Сабуро, Вильсона–Блера, желточно-солевой агар.

Инкубирование выполняли при температуре 37 °С продолжительностью от 24–48 ч до 5 сут в зависимости от вида возбудителя. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам. Количество микроорганизмов в 1 г фекалий и тканей толстой кишки выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) и обозначали в десятичных логарифмах.

Статистическая обработка проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Рассчитывали медиану (Me), межквартильные интервалы [25%; 75%]. Достоверность межгрупповых различий средних величин оценивали, используя U-критерий Манна–Уитни. Критической величиной уровня значимости считали 0,05.

В группе лабораторных крыс, находившихся на белковом типе питания, анализ биохимических показателей крови показал значительные изменения со стороны печёночных проб (табл. 1). Так, отмечено достоверное повышение в крови цитолитических печёночных ферментов — аланинаминотрансферазы (АЛТ; на 16,8%; $p=0,0045$) и аспаратаминотрансферазы (АСТ; на 24,7%; $p=0,0005$) в сравнении с контрольной группой. Общий белок превысил показатели контрольной группы на 40,6% ($p=0,0001$), триглицериды — на 6,3% ($p=0,0028$). Белковая диета способствовала снижению уровня холестерина на 20% ($p=0,0155$), Апо-А1-протеина — на 33,4% ($p=0,0140$).

Следовательно, применение диеты с высоким содержанием белка в рационе вызвало существенное изменение со стороны печёночных ферментов, триглицеридов и выраженное повышение уровня общего белка, в то время как значения показателей

холестерина снижались.

Последующая коррекция выявленных нарушений препаратом «Нормобакт» приводила к некоторому снижению уровня показателей общего белка ($p=0,0493$), глюкозы (на 7,52%, $p=0,0172$) и АСТ (на 9,8%, $p=0,0065$). Значения показателей липидного спектра (триглицеридов, Апо-А1- и Апо-В1-протеина, липопротеинов высокой и низкой плотности, коэффициента атерогенности) приближался к значениям контрольной группы.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови крыс с белковым типом питания и последующей коррекцией препаратом «Нормобакт» показал достоверное превышение соответствующих параметров контрольной группы по активности АЛТ, АСТ, содержанию общего белка, липопротеинов высокой плотности, триглицеридов, в то время как уровни глюкозы и холестерина достоверно снижались.

Исследование микрофлоры толстой кишки установило достоверно низкое содержание *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* в группе крыс с белковым типом питания в сравнении с контролем ($p=0,0493$ и $p=0,0451$). Параллельно определялся рост условно-патогенной микрофлоры — *Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Clostridium spp.* После коррекции препаратом «Нормобакт» патогенная микрофлора (*Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.*, грибы рода *Candida spp.*) не выявлялась, содержание *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* статистически значимо превысило уровень группы с белковым типом питания ($p=0,0005$ и $p=0,0001$; табл. 2).

Анализ микрофлоры кала показал, что в группе с белковой диетой также присутствовала условно-патогенная микрофлора (*Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Clostridium spp.*). Содержание *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* снижалось ($p=0,000157$ и $p=0,028366$ соответственно).

После коррекции, проведённой препаратом «Нормобакт», в сравнении с группой лабораторных животных, потреблявших белковую пищу, показатели роста условно-патогенной микрофлоры снижались до нуля, а содержание *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* повышалось ($p=0,0283$, $p=0,0081$; табл. 3).

В настоящее время довольно широко назначают высокобелковую диету пациентам, страдающим избыточной массой тела,

с целью её снижения. Однако положительные результаты оказались под сомнением при использовании такого типа питания в течение длительного времени в связи с неблагоприятным воздействием на ткани и системы организма [9]. Литературные данные показывают, что высокие уровни печёночных аминотрансфераз свидетельствуют о наличии повреждения клеток печени и деструктивных процессов в гепатоцитах с разрушением плазматических мембран [10].

Важную роль играет процентное соотношение белка в общем рационе, но и по этому вопросу данные весьма противоречивы. Так, в экспериментальном исследовании М. Oarada [5] отмечено увеличение активности АЛТ и АСТ на фоне диеты с 25% содержанием белка, в то время как в работе R.V. Kostogryz [11] использование диеты с 50% содержанием белка не вызывало изменений значения показателей ферментов. Тем не менее, авторы отмечали увеличение массы печени. В работе С. Jean и соавт. отмечено увеличение активности АЛТ без изменения показателей АСТ при 50% белковой диете [12].

В настоящей работе на фоне диеты с 35% содержанием белка показатели аминотрансфераз достоверно возрастали, а холестерин и Апо-А1-протеина — снижались относительно значений соответствующих показателей контрольной группы. Также достоверно превысило уровень контрольной группы содержание общего белка и триглицеридов.

В научной литературе есть сведения о стимулирующем воздействии избыточного потребления белков на рост патогенных микроорганизмов, влияющих на состояние кишечного барьера и иммунную систему, вследствие регулирования экспрессии генов в соответствующих сигнальных путях и изменения секреции метаболитов [13].

Так, на фоне высокобелковой диеты С. Mu, Y. Yang и соавт. (2017) проанализировали взаимосвязь морфофункционального поражения кишечника и состояния микробиоты. Ими было установлено изменение состава фекальной микробиоты, связанное с уменьшением количества и активности бактерий, продуцирующих пропионат и бутират [13]. В то же время результаты клинических исследований A.L. Ford и соавт. свидетельствуют о том, что использование диеты с высоким содержанием животного или растительного белка не привело к изменениям микробиоты у пожилых женщин [14].

В нашей работе при высокобелковой диете и наличии изменений биохимических параметров сыворотки крови в микрофлоре толстой кишки и кала достоверно снижались показатели *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* относительно значений контрольной группы, в то время как содержание условно-патогенной микрофлоры осталось на прежнем уровне.

Для коррекции выявленных изменений мы использовали препарат, содержащий *Lactobacillus acidophilus LA-5* и *Bifidobacterium BB-12Y*. В результате коррекции в биохимических параметрах крови произошло достоверное снижение показателей общего белка, глюкозы, уровня АСТ. Микробиота толстой кишки и кала показала достоверно значимые изменения со стороны уровня *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, которые превысили показатели контрольной группы, а уровень условно-патогенной микрофлоры снизился до нуля.

ВЫВОДЫ

1. Высокобелковая диета оказывает негативное воздействие на печёночные клетки, вызывая повышение активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, изменяя показатели холестерина и белкового обмена, что сопровождается качественными и количественными изменениями микробиоты толстой кишки и кала.

2. Использование препарата «Нормобакт» вызывает позитивные сдвиги, что выражается в нормализации показателей содержания общего белка, глюкозы и снижении активности аспартатаминотрансферазы. На фоне увеличения содержания *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* условно-патогенная флора практически не обнаруживается.

3. Нормализацию микробиоты кишечника следует рассматривать как одно из направлений коррекции нарушений, вызванных чрезмерным потреблением высокобелковой пищи.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по данной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lemon W.R., Tarnopolsky M.A., MacDougall J.D. et al. Protein requirements and muscle mass/strength changes during intensive training in novice bodybuilders. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1992; 73 (2): 767–775. PMID:

1400008.

2. Santesso N., Akl E.A., Bianchi M. et al. Effects of higher- versus lower-protein diets on health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2012; 66: 780–788. DOI: 10.1038/ejcn.2012.37.
3. Layman D.K., Shiue H., Sather C. et al. Increased dietary protein modifies glucose and insulin homeostasis in adult women during weight loss. *J. Nutr.* 2003; 133: 405–410. PMID: 12566475.
4. Genton L., Melzer K., Pichard C. Energy and macronutrient requirements for physical fitness in exercising subjects. *Clin. Nutr.* 2010; 29 (4): 413–423. DOI: 10.1016/j.clnu.2010.02.002.
5. Oarada M., Tsuzuki T., Nikawa T. et al. Refeeding with a high-protein diet after a 48 h fast causes acute hepatocellular injury in mice. *Br. J. Nutr.* 2012; 107 (10): 1435–1444. DOI: 10.1017/S0007114511004521.
6. Lopez-Legarrea P., Fuller N.R., Zulet M.A. et al. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2014; 23 (3): 360–368. DOI: 10.6133/apjcn.2014.23.3.16.
7. Wojcik J.L., Devassy J.G., Yinghong Wu. et al. Protein source in a high-protein diet modulates reductions in insulin resistance and hepatic steatosis in fa/fa Zucker rats. *Obesity (Silver Spring)*. 2016; 24 (1): 123–131. DOI: 10.1002/oby.21312.
8. Эпштейн-Литвак Р.В., Вильшанская Ф.Л. *Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника. Методические рекомендации.* М., 1977; 20 с. [Epshteyn-Litvak R.V., Vil'shanskaya F.L. *Bakteriologicheskaya diagnostika disbakterioza kishhechnika. Metodicheskie rekomendatsii.* (Bacteriologic diagnosis of intestinal dysbiosis. Methodological recommendations.) Moscow, 1977; 20 p. (In Russ.)]
9. Song M., Fung T.T., Hu F.B. et al. Association of animal and plant protein intake with all-cause and cause-specific mortality. *JAMA Intern. Med.* 2016; 176 (10): 1453–1463. DOI: 10.1001/jamainternmed.2016.4182.
10. Heeringa M., Hastings A., Yamazaki S., de Koning P. Serum biomarkers in nonalcoholic steatohepatitis: value for assessing drug effects? *Biomark. Med.* 2012; 6 (6): 743–757. DOI: 10.2217/bmm.12.87.
11. Kostogrys R.B., Franczyk-Żarów M., Maślak E. et al. Effect of low carbohydrate high protein (LCHP) diet on lipid metabolism, liver and kidney function in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2015; 39 (2): 713–719. DOI: 10.1016/j.etap.2015.01.008.
12. Jean C., Rome S., Mathé V. et al. Metabolic evidence for adaptation to a high protein diet in rats. *J. Nutr.* 2001; 131 (1): 91–98. PMID: 11208943.
13. Mu C., Yang Y., Luo Z. et al. Temporal microbiota changes of high-protein diet intake in a rat model. *Anaerobe*. 2017; 47: 218–225. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2017.06.003.
14. Ford A.L., MacPherson C., Girard S.A. et al. Effects of a high protein diet with and without a multi-strain probiotic and prebiotic on microbiota and gastrointestinal wellness in older women: a randomized, doubleblind, placebo-controlled crossover study. *FASEB J.* 2017; 31 (1 Suppl.): 443–448.