



Адаптация протокола пробы Квика – Пытеля для оценки антитоксической функции печени у мышей

В. А. Приходько^{1✉}, Т. М. Матузок¹, В. Е. Карев², А. Б. Изотова¹, С. В. Оковитый¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (ФГБОУ ВО СПбГУ). 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

✉ Контактное лицо: Приходько Вероника Александровна. E-mail: vaprikhodko@mail.ru

ORCID: В. А. Приходько – <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Т. М. Матузок – <https://orcid.org/0000-0002-1640-016X>;

В. Е. Карев – <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>;

А. Б. Изотова – <https://orcid.org/0000-0001-8356-1863>;

С. В. Оковитый – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Статья поступила: 01.12.2025

Статья принята в печать: 17.12.2025

Статья опубликована: 19.12.2025

Резюме

Введение. Функциональные печеночные пробы являются актуальной группой методик скрининговой оценки состояния печени, применимых как в лабораторных исследованиях, так и в клинической практике. В эту группу в том числе входит проба Квика – Пытеля, основанная на ферментативной реакции образования гиппуровой кислоты из глицина и бензоата в печени. Эта проба отличается малой инвазивностью и сравнительной простотой выполнения, однако в настоящий момент отсутствует детализированный протокол ее проведения у мелких лабораторных животных.

Цель. Целью работы являлась адаптация протокола пробы Квика – Пытеля для оценки антитоксической функции печени у мышей.

Материалы и методы. Белым беспородным мышам-самцам ($n = 10$) вводили внутривенно нагрузочные дозы натрия бензоата и глицина в эквимольном соотношении (504 мг/кг и 264 мг/кг соответственно), после чего в течение 18 ч собирали мочу в метаболических клетках. После пробоподготовки титровали образовавшуюся гиппуровую кислоту 0,01 Н раствором калия гидроксида в присутствии 1%-го раствора фенолфталеина. Через 1 неделю после измерения мышам вводили тетрахлорметан (1 мл/кг) для индукции острого токсического гепатита, после чего проводили пробу повторно. Поражение печени верифицировали гистологически с окрашиванием гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение. После введения тетрахлорметана концентрация гиппуровой кислоты в моче статистически значимо ($p < 0,01$) снизилась более чем на 50 % от исходного уровня. В образцах печени при этом наблюдали характерную морфологическую картину острого токсического гепатита.

Заключение. Проведена адаптация протокола пробы Квика – Пытеля для мышей и подтверждена ее применимость для оценки антитоксической функции печени при остром поражении. Описанная в работе методика проста в исполнении, не требует существенных затрат и может быть использована для рутинной оценки функционального состояния печени у мелких лабораторных животных.

Ключевые слова: проба Квика – Пытеля, функциональные печеночные пробы, печень, лабораторная диагностика, мыши

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. А. Приходько – идея и планирование исследования. В. А. Приходько, Т. М. Матузок, В. Е. Карев – проведение экспериментов и обработка данных. В. А. Приходько, В. Е. Карев – подготовка иллюстраций. В. А. Приходько, А. Б. Изотова, С. В. Оковитый – подготовка и редакция рукописи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Приходько В. А., Матюзок Т. М., Карев В. Е., Изотова А. Б., Оковитый С. В. Адаптация протокола пробы Квика – Пытеля для оценки антитоксической функции печени у мышей. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2026;15(1):202–209. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2256>

Adaptation of the Quick – Pytel test protocol for the assessment of liver antitoxic function in mice

Veronika A. Prikhodko¹✉, Tatyana M. Matuzok¹, Vadim E. Karev²,
Anna B. Izotova¹, Sergey V. Okovityi¹

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

² St. Petersburg State University. 7–9, Universitetskaya Embankment, Saint-Petersburg, 199034, Russia

✉ **Corresponding author:** Veronika A. Prikhodko. **E-mail:** vaprikhodko@mail.ru

ORCID: Veronika A. Prikhodko – <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;

Tatyana M. Matuzok – <https://orcid.org/0000-0002-1640-016X>;

Vadim E. Karev – <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>;

Anna B. Izotova – <https://orcid.org/0000-0001-8356-1863>;

Sergey V. Okovityi – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Received: 01.12.2025

Accepted: 17.12.2025

Published: 19.12.2025

Abstract

Introduction. Functional liver tests are a relevant group of methods for liver function screening, that can be used in a laboratory setting as well as in clinical practice. This group includes, among others, the Quick – Pytel test, which is based on the enzymatic formation of hippuric acid from glycine and benzoate in the liver. This test is minimally invasive and comparatively ease to perform, yet as of now, there is no detailed protocol to carry it out in small laboratory animals.

Aim. The objective of this work was to develop a protocol of the Quick – Pytel test to assess liver antitoxic function in small laboratory animals.

Materials and methods. Loading doses of sodium benzoate and glycine at an equimolar ratio (504 mg/kg and 264 mg/kg, respectively) were administered intraperitoneally to white outbred male mice ($n = 10$), after which urine samples were collected over 18 h in metabolic cages. Following sample preparation, the newly formed hippuric acid was titrated by 0.01 N potassium hydroxide in the presence of 1 % phenolphthalein. In 1 week, the mice were injected with carbon tetrachloride (1 mL/kg) to induce acute toxic hepatitis, and the test was repeated. Liver injury was confirmed morphologically with haematoxylin and eosin staining.

Results and discussion. Following carbon tetrachloride administration, urinary concentrations of hippuric acid decreased significantly ($p < 0.01$) by over 50 % from baseline. Liver samples exhibited characteristic features of acute toxic hepatitis.

Conclusion. We have developed a protocol of the Quick – Pytel test in mice and confirmed its applicability to assess liver antitoxic function under acute injury conditions. The method we describe is simple and straightforward, is relatively low-cost, and can be used in routine practice to assess liver function in small laboratory animals.

Keywords: the Quick – Pytel test, functional liver tests, liver, laboratory diagnostics, mice

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Veronika A. Prikhodko – study design and planning. Veronika A. Prikhodko, Tatyana M. Matuzok, Vadim E. Karev – experiment conduction and data analysis. Veronika A. Prikhodko, Vadim E. Karev – visualization. Veronika A. Prikhodko, Anna B. Izotova, Sergey V. Okovityi – manuscript writing and review.

Funding. The results of this work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of the Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University" (agreement No. 075-15-2021-685 from 26 July 2021) with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

For citation: Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Izotova A. B., Okovityi S. V. Adaptation of the Quick – Pytel test protocol for the assessment of liver antitoxic function in mice. *Drug development & registration.* 2026;15(1):202–209. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2256>

ВВЕДЕНИЕ

Острые и хронические заболевания печени сопровождаются снижением всех ее функций. Так называемые функциональные печеночные пробы (ФПП) представляют собой тесты, применяемые в рамках скрининга для оценки состояния печени, включая ее синтетическую, антиоксическую и экскреторную функции. Наибольшее распространение в настоящее время имеют ФПП, основанные на анализе печеночного клиренса красителей бромсульфоталеина (бром-сульфалеина) и индоцианина зеленого, а также ряд стабильноизотопных дыхательных тестов, таких как ^{13}C -аминопириновый и ^{13}C -метацетиновый [1]. Недостатком большинства из этих проб является необходимость спектрометрического или хроматографического определения вещества, что требует применения сложного и дорогостоящего оборудования, затрудняя рутинное проведение процедуры для мелких лабораторных животных.

В 1933 г. американский врач Арман Джеймс Квик (Armand James Quick) предложил первую в истории ФПП, основанную на титриметрическом определении в моче гиппуровой кислоты (ГК) [2], образующейся из бензойной кислоты и глицина путем ферментативной реакции в печени (рисунок 1). В 1941–1945 гг. советский уролог Антон Яковлевич Пытель модифицировал пробу Квика, адаптировав ее для клинического применения [3].

Для проведения пробы Квика – Пытеля пациентам дают на прием внутрь 4 г натрия бензоата со стаканом воды, после чего через 4 ч собирают мочу, в которой определяют содержание ГК алкалиметрическим или гравиметрическим методом [3]. Здоровый человек за 4 ч выделяет с мочой около 5,44 г ГК, что эквивалентно 3,7 г натрия бензоата, то есть 92,5 % его введенной дозы. Клиренс натрия бензоата от 88 % и выше свидетельствует о выполнении печенью своей антиоксической функции на 100 %. При 70–92 % функция печени считается умеренно нарушенной, при 50–69 % – значительно нарушенной и при менее 49 % – резко сниженной [3].

Целью нашего исследования стала оптимизация пробы Квика – Пытеля для лабораторных мышей и составление подробного протокола ее проведения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в соответствии с Базельской декларацией и Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств после одобрения биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ (протокол № Mice-02/Ct-24). Эксперименты были выполнены на 10 белых беспородных мышатах-самцах возрастом 3 мес. и массой тела 18–22 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область, Россия) ФГУП «НИЦ «Курчатовский институт» одной партией и прошедших карантин в течение 14 дней. Мыши получали «Полнорацционный экструдированный комбикорм ЛБК-120 для лабораторных животных (крыс, мышей)» (ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия) и воду, соответствующую требованиям СанПиН 2.1.3684-21, со свободным доступом. Животные содержались при температуре 20–26 °C и относительной влажности 30–70 % с 12-часовым циклом освещения.

Для проведения ФПП мышам вводили внутрибрюшинно 504 мг/кг натрия бензоата (Merck KGaA, Германия) и 264 мг/кг глицина (Sigma-Aldrich, США) в виде свежеприготовленных растворов в 0,9%-м растворе натрия хлорида («Натрия хлорид – Солофарм», ООО «Гротекс», Россия). Для обеспечения водной нагрузки дополнительно вводили 0,5 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида внутрь с помощью зонда и еще 0,5 мл – подкожно. Помещали животных в метаболические клетки (Bioscape GmbH / ZOONLAB GmbH, Германия) со свободным доступом к корму и воде и через 18 ч собирали образцы мочи.

Фиксировали общий объем мочи и отбирали образец объемом от 100 до 500 мкл. Добавляли к образцу аммония сульфат (AppliChem GmbH, Германия) из соотношения 50 мг на 100 мкл образца, перемешивали и отфильтровывали (фильтры средней фильтрации «белая лента», ООО «Реакон», Россия). Проверя-

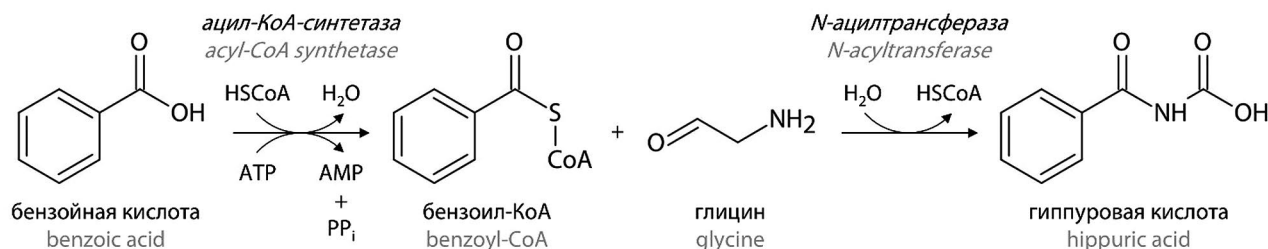


Рисунок 1. Биосинтез гиппуровой кислоты.

КоА, СоА – коэнзим А; АТФ – аденозинтрифосфат; АМР – аденозинмонофосфат; РРi – неорганический фосфат

Figure 1. Biosynthesis of hippuric acid.

CoA – coenzyme A; ATP – adenosine triphosphate; AMP – adenosine monophosphate; PPi – inorganic phosphate

ли pH фильтрата и при необходимости подкисляли 0,01 Н раствором кислоты соляной (АО «ЛенРеактив», Россия) до pH ~ 5,0 по универсальной индикаторной бумаге (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия). Пробу оставляли при комнатной температуре на 2 ч для выпадения осадка, после чего повторно отфильтровывали. Смывали осадок с фильтра и довели объем

раствора дистиллированной водой до 100 мл. Нагревали пробу на водяной бане до 95 °С до полного растворения осадка. Отбирали 10 мл раствора и титровали 0,01 Н раствором калия гидроксида (АО «ЛенРеактив», Россия) в присутствии 1%-го раствора фенолфталеина в изопропанол (ООО «НИИ ИТиМ», Россия) до слабой розовой окраски (рисунок 2).

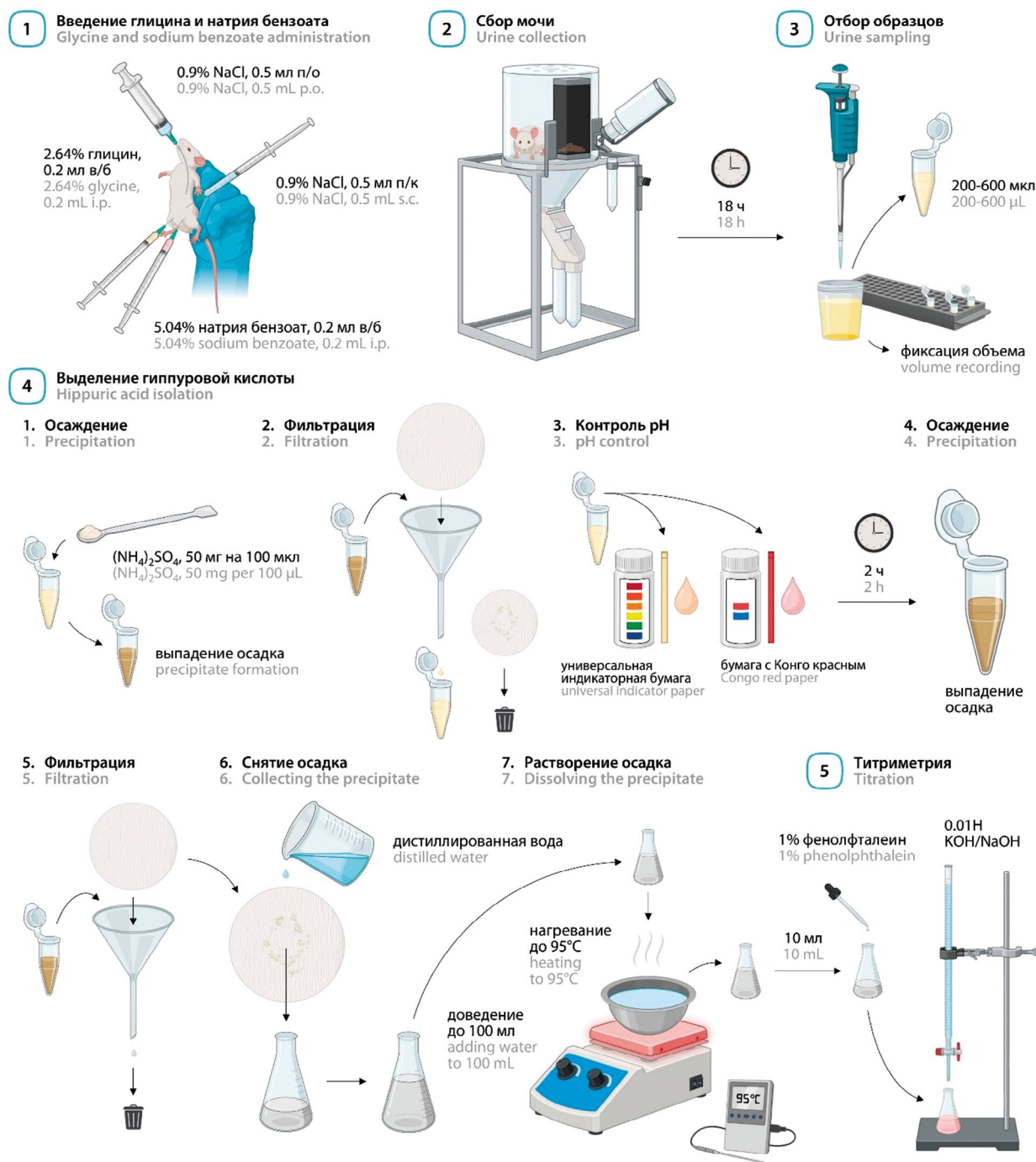


Рисунок 2. Алгоритм выполнения пробы Квика – Пителя для мышей.

В/б – внутрибрюшинно; п/о – перорально; п/к – подкожно. Иллюстрация создана с использованием BioRender (www.biorender.com)

Figure 2. The algorithm for the Quick – Pytel test in mice.

I.p. – intraperitoneally; p.o. – per os; s.c. – subcutaneously. Illustration created using BioRender (www.biorender.com)

Фиксировали израсходованный объем титранта и рассчитывали концентрацию ГК в моче по формуле:

$$C = \frac{V_{\text{кон}} \cdot 1,7917 \cdot 1000}{V_{\text{образца}} \cdot 179,17} \quad \text{или} \quad C = \frac{V_{\text{кон}} \cdot 10}{V_{\text{образца}}},$$

где C (ммоль/л) – концентрация ГК в моче; 1,7917 (мг/мл) – масса ГК, реагирующая с 1 мл титранта; $V_{\text{кон}}$ (мл) – израсходованный объем титранта; $V_{\text{образца}}$ (мл) – объем мочи, взятый для анализа; 179,17 (г/моль) – молярная масса ГК; 1000 – коэффициент для перевода единиц измерения.

Для индукции острого гепатита через 1 нед. после выполнения ФПП мышам вводили внутривенно 1 мл/кг тетрахлорметана [4] (АО «ЭКОС-1», Россия) в виде свежеприготовленного раствора (1:3 по объему) в миндальном масле (ООО «Аромарка», Россия), после чего повторно выполняли ФПП по вышеописанному протоколу.

После отбора проб мочи животных подвергали эвтаназии углекислым газом (бокс Bioscape GmbH / ZOONLAB GmbH, Германия) и забирали образцы печени для гистологического исследования. Образцы помещали в 10%-й забуференный формалин и фиксировали в течение 24 ч. Далее образцы вырезали, помещали в гистологические кассеты и подвергали стандартной гистологической проводке в гистопроцессоре Thermo Scientific Excelsior AS (Thermo Shandon Ltd., Великобритания), после чего заливали в парафин и микротомировали с использованием ротационного микротомы. Срезы толщиной 3–3,5 мкм помещали на предметные стекла, окрашивали гема-

токсином и эозином и исследовали в проходящем свете с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Prism 10.4.1 (GraphPad Software Inc., США). С помощью W-критерия Шапиро – Уилка определяли нормальность распределения данных, после чего оценивали значимость различия групп с помощью парного t-теста. Порог статистической значимости устанавливали на уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индукция острого гепатита с помощью тетрахлорметана была ассоциирована с летальным исходом в 40 % случаев; для проведения парного сравнения использовали только данные выживших животных. Концентрации ГК в моче мышей составили $20,63 \pm 2,11$ и $9,35 \pm 1,26$ ммоль/л до и после индукции гепатита соответственно ($p < 0,01$) (рисунок 3, А).

Результаты гистологического исследования позволили верифицировать целевую патологию у экспериментальных животных. Во всех образцах наблюдали повреждение паренхимы печени, соответствующее высокой гистологической активности гепатита (стадия 3 по шкале METAVIR-A), с преобладанием белковой и/или жировой дистрофии гепатоцитов и формированием централобулярных очагов коагуляционного некроза (рисунок 3, В).

Функциональная проба Квика – Пытеля, основанная на образовании ГК из бензоата и глицина в печени, имеет долгую историю валидации и использования в клинической практике, характеризуется вы-

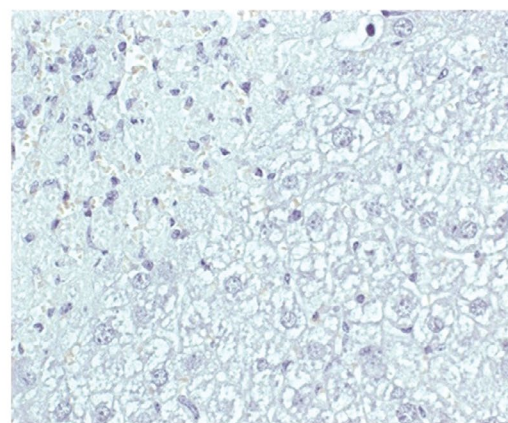
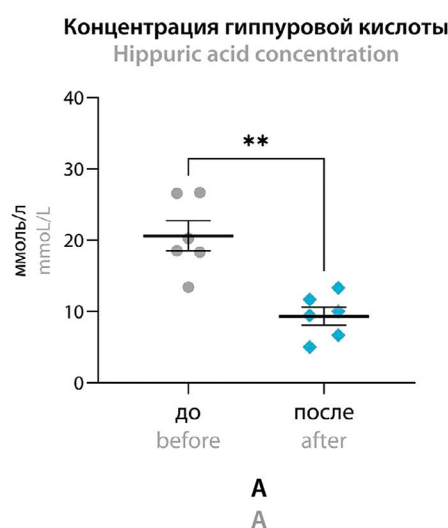


Рисунок 3. Оценка функции печени у выживших животных

А – концентрация гиппуровой кислоты (ГК) в моче мышей до и после индукции токсического гепатита. $** p < 0,01$. **В** – морфологическая картина острого гепатита после введения тетрахлорметана. Гематоксилин и эозин, $\times 400$

Figure 3. Liver function assessment in surviving animals

A – hippuric acid (HA) concentration in mouse urine before and after the induction of toxic hepatitis. $** p < 0.01$. **B** – liver morphology after toxic hepatitis induction by carbon tetrachloride. Haematoxylin & eosin, $\times 400$

сокой точностью, стабильностью и надежностью [5, 6]. Бензойная кислота и ее соли содержатся в организме в незначительных количествах. Поступающий извне натрия бензоат, помимо детоксификации в печени, метаболизируется кишечным микробиомом, что может оказывать дополнительное влияние на его биодоступность при пероральном приеме [7]. Вариант пробы Квика – Пытеля с внутривенным введением натрия бензоата, использовавшийся ранее с диагностической целью [6], в настоящее время не применяется, однако для лабораторных грызунов парентеральное введение соединения обеспечивает большую точность дозирования и является предпочтительным.

Глицин синтезируется в печени из серина путем глицинсинтазной реакции со скоростью 12–15 мг/кг/ч [8]. Сокращение числа функционально активных клеток печени приводит к снижению системных уровней глицина [9], что также может влиять на результаты пробы. Установлено, что скорость-лимитирующим фактором биосинтеза ГК является именно наличие свободного глицина [2]. Таким образом, вне зависимости от уровня бензойной кислоты в организме в случае отсутствия экзогенного поступления глицина клиренс ГК является относительно постоянной величиной и для человека в норме составляет порядка 0,35 г/л, или порядка 2 ммоль/л [10]. У мышей дикого типа концентрация ГК в моче находится в диапазоне 5–15 ммоль/л [11].

Уменьшение уровня выделяемой с мочой ГК указывает на нарушение ее образования в печени вследствие снижения ее функционального резерва. В настоящей работе мы наблюдали значительное уменьшение концентраций ГК в моче у мышей после интоксикации гепатотропным ядом тетрахлорметаном. Вызываемый им острый гепатит характеризуется развитием некроза, белковой и жировой дистрофии гепатоцитов, локализованных преимущественно в центральной зоне печеночной дольки, где максимальна активность зависимых от цитохрома P450 монооксигеназ и преобладает продукция повреждающих метаболитов токсиканта [12].

Повышенное выделение с мочой ГК может отмечаться при употреблении преимущественно растительной пищи, богатой бензойной кислотой или ее предшественниками [13]. В соответствии с этим не следует использовать пробу Квика – Пытеля у мышей, получающих препараты, представляющие собой соли или эфиры бензойной кислоты (например, алоглиптина, амлодипина, ризатриптана бензоаты), а также продукты, содержащие натрия бензоат в качестве консерванта, без соответствующего контроля. Биологическими прекурсорами глицина являются серин, треонин, бетаин (триметилглицин), диметилглицин, холин, глутамин, глутамат, глиоксилат [14–16]. Остаток глицина содержат препараты теофиллина натрия глицинат и тиамфеникола глицинат ацетилцистеинат; предшественниками глицина могут являться хо-

лина фенофибрат и холина альфосцерат. Аланин, цистеин, лейцин, норлейцин, изовалин, аспарагиновая и гликолевая кислоты, гликоальдегид, глюкоза, мочевины, натрия ацетат не влияют на биосинтез глицина у кроликов [17]. Помимо бензойной кислоты, в реакцию конъюгации с глицином способны напрямую или после биотрансформации вступать салициловая (в том числе образующаяся из ацетилсалициловой), гентизиновая, коричневая, изовалериановая кислоты [18], фенилпропионовая кислота и природные полифенолы [19], толуол [20].

Поскольку клиренс гиппуровой кислоты практически на 100 % осуществляется почками, интерпретация результатов пробы Квика – Пытеля у мышей с нарушениями функции почек может быть затруднительна. Кроме этого, имеются данные, что в почках протекает и некоторая доля биосинтеза ГК [21]. Повышение концентраций ГК в моче наблюдается при хронической болезни почек и уремическом синдроме, снижение – при ожирении, болезни Крона, шизофрении, фенилкетонурии, раке легких, толстой кишки и мочевого пузыря [22]. В связи с вышесказанным в клинической лабораторной диагностике практикуется поправка уровня гиппуровой кислоты в моче на уровень креатинина с выражением результата в ммоль/моль или г/г креатинина. Референтный уровень определен как 0,18 г/г креатинина для взрослых. У женщин и людей старшего возраста концентрации гиппуровой кислоты в моче выше, чем у мужчин и молодых людей [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адаптированная в проведенном исследовании для скрининговой оценки антитоксической функции печени у лабораторных мышей проба Квика – Пытеля косвенно отражает количество функционально активных гепатоцитов, будучи простой в исполнении и не требующей значительных расходов. Однако при использовании пробы необходимо учитывать функцию почек и наличие некоторых других патологических состояний у экспериментальных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулин И. Г., Медведев Ю. В. 13С-метацетиновый дыхательный тест при оценке функционального резерва печени. *Фарматека*. 2016;(55):71–80.
2. Quick A. J., Cooper M. A. The synthesis of hippuric acid: a new test of liver function. *The American Journal of the Medical Sciences*. 1933;185:630–635. DOI: 10.1097/00000441-193305000-00004.
3. Пытель А. Я. Функциональная проба печени Квика в клинике хирургических заболеваний. *Клиническая медицина*. 1945;23(4–5):42.
4. Huang H.-L., Wang Y.-J., Zhang Q.-Y., Liu B., Wang F.-Y., Li J.-J., Zhu R.-Z. Hepatoprotective effects of baicalin against CCl₄-induced acute liver injury in mice. *World Journal of Gastroenterology*. 2012;18(45):6605–6613. DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6605.

5. Snell A. M., Plunkett J. E. The hippuric acid test for hepatic function; its relation to other tests in general use. *American Journal of Digestive Diseases and Nutrition*. 1935;(2):716–721. DOI: 10.1007/BF03002434.
6. Meneghello J., Drinberg M. Intravenous hippuric acid test of hepatic function in infectious diseases of children. *American Journal of Diseases of Children*. 1943;66(2):103–113. DOI: 10.1001/archpedi.1943.02010200003001.
7. Yadav M., Lomash A., Kapoor S., Pandey R., Singh Chauhan N. Mapping of the benzoate metabolism by human gut microbiome indicates food-derived metagenome evolution. *Scientific Reports*. 2021;11(1):5561. DOI: 10.1038/s41598-021-84964-6.
8. Aguayo-Cerón K. A., Sánchez-Muñoz F., Gutierrez-Rojas R. A., Acevedo-Villavicencio L. N., Flores-Zarate A. V., Huang F., Giacomani-Martinez A., Villafañá S., Romero-Nava R. Glycine: The Smallest Anti-Inflammatory Micronutrient. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(14):11236. DOI: 10.3390/ijms241411236.
9. Rom O., Liu Y., Liu Z., Zhao Y., Wu J., Ghayeb A., Villacorta L., Fan Y., Chang L., Wang L., Liu C., Yang D., Song J., Rech J. C., Guo Y., Wang H., Zhao G., Liang W., Koike Y., Lu H., Koike T., Hayek T., Pennathur S., Xi C., Wen B., Sun D., Garcia-Barrio M. T., Aviram M., Gottlieb E., Mor I., Liu W., Zhang J., Chen Y. E. Glycine-based treatment ameliorates NAFLD by modulating fatty acid oxidation, glutathione synthesis, and the gut microbiome. *Science Translational Medicine*. 2020;12(572):eaaz2841. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz2841.
10. Ikeda M., Ohtsuji H. Significance of urinary hippuric acid determination as an index of toluene exposure. *British Journal of Industrial Medicine*. 1969;26(3):244–246. DOI: 10.1136/oem.26.3.244.
11. Pruss K. M., Chen H., Liu Y., Van Treuren W., Higginbottom S. K., Jarman J. B., Fischer C. R., Mak J., Wong B., Cowan T. M., Fischbach M. A., Sonnenburg J. L., Dodd D. Host-microbe co-metabolism via MCAD generates circulating metabolites including hippuric acid. *Nature Communications*. 2023;14(1):512. DOI: 10.1038/s41467-023-36138-3.
12. Скуратов А. Г. Тетрахлорметановая модель гепатита и цирроза печени у крыс. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2012;(9):37–40.
13. Beyoğlu D., Idle J. R. The glycine deportation system and its pharmacological consequences. *Pharmacology & Therapeutics*. 2012;135(2):151–167. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.05.003.
14. Qureshi I. A., Clermont P., Letarte J. The importance of glyoxylate and other glycine precursors in the hepatic and renal conjugation of benzoate in normal and hyperammonemic mice. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1989;67(11):1426–1430. DOI: 10.1139/y89-228.
15. Siegert W., Ahmadi H., Helmbrecht A., Rodehutschord M. A quantitative study of the interactive effects of glycine and serine with threonine and choline on growth performance in broilers. *Poultry Science*. 2015;94(7):1557–1568. DOI: 10.3382/ps/pev109.
16. Alves A., Bassot A., Bulteau A.-L., Pirola L., Morio B. Glycine Metabolism and Its Alterations in Obesity and Metabolic Diseases. *Nutrients*. 2019;11(6):1356. DOI: 10.3390/nu11061356.
17. Griffith W. H., Lewis H. B. Studies in the synthesis of hippuric acid in the animal organism: V. The influence of amino-acids and related substances on the synthesis and rate of elimination of hippuric acid after the administration of benzoate. *Journal of Biological Chemistry*. 1923;57(1):1–24. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)85523-5.
18. Leung K.-Y., De Castro S. C. P., Santos C., Savery D., Prunty H., Gold-Diaz D., Bennett S., Heales S., Copp A. J., Greene N. D. E. Regulation of glycine metabolism by the glycine cleavage system and conjugation pathway in mouse models of non-ketotic hyperglycinemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2020;43(6):1186–1198. DOI: 10.1002/jimd.12295.
19. Badenhorst C. P. S., Erasmus E., van der Sluis R., Nortje C., van Dijk A. A. A new perspective on the importance of glycine conjugation in the metabolism of aromatic acids. *Drug Metabolism Reviews*. 2014;46(3):343–361. DOI: 10.3109/03602532.2014.908903.
20. Siqueira M. E., Paiva M. J. N. Hippuric acid in urine: reference values. *Revista de Saude Publica*. 2002;36(6):723–727. DOI: 10.1590/s0034-89102002000700010.
21. Beyoğlu D., Smith R. L., Idle J. R. Dog bites man or man bites dog? The enigma of the amino acid conjugations. *Biochemical Pharmacology*. 2012;83(10):1331–1339. DOI: 10.1016/j.bcp.2011.12.031.
22. Bhattacharyya D., LeVatte M. A., Wishart D. S. A fast and accurate colorimetric assay for quantifying hippuric acid in human urine. *Analytical Biochemistry*. 2023;680:115303. DOI: 10.1016/j.ab.2023.115303.

REFERENCES

1. Bakulin I. G., Medvedev Yu. V. 13C-methacetin breath test in assessing the functional reserve of the liver. *Farmateka*. 2016;(S5):71–80. (In Russ.)
2. Quick A. J., Cooper M. A. The synthesis of hippuric acid: a new test of liver function. *The American Journal of the Medical Sciences*. 1933;185:630–635. DOI: 10.1097/00000441-193305000-00004.
3. Pytel' A. Ya. Quick's liver function test in the clinic of surgical diseases. *Klinicheskaya medicina*. 1945;23(4–5):42. (In Russ.)
4. Huang H.-L., Wang Y.-J., Zhang Q.-Y., Liu B., Wang F.-Y., Li J.-J., Zhu R.-Z. Hepatoprotective effects of baicalin against CCl₄-induced acute liver injury in mice. *World Journal of Gastroenterology*. 2012;18(45):6605–6613. DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6605.
5. Snell A. M., Plunkett J. E. The hippuric acid test for hepatic function; its relation to other tests in general use. *American Journal of Digestive Diseases and Nutrition*. 1935;(2):716–721. DOI: 10.1007/BF03002434.
6. Meneghello J., Drinberg M. Intravenous hippuric acid test of hepatic function in infectious diseases of children. *American Journal of Diseases of Children*. 1943;66(2):103–113. DOI: 10.1001/archpedi.1943.02010200003001.
7. Yadav M., Lomash A., Kapoor S., Pandey R., Singh Chauhan N. Mapping of the benzoate metabolism by human gut microbiome indicates food-derived metagenome evolution. *Scientific Reports*. 2021;11(1):5561. DOI: 10.1038/s41598-021-84964-6.
8. Aguayo-Cerón K. A., Sánchez-Muñoz F., Gutierrez-Rojas R. A., Acevedo-Villavicencio L. N., Flores-Zarate A. V., Huang F., Giacomani-Martinez A., Villafañá S., Romero-Nava R. Glycine: The Smallest Anti-Inflammatory Micronutrient. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(14):11236. DOI: 10.3390/ijms241411236.
9. Rom O., Liu Y., Liu Z., Zhao Y., Wu J., Ghayeb A., Villacorta L., Fan Y., Chang L., Wang L., Liu C., Yang D., Song J., Rech J. C., Guo Y., Wang H., Zhao G., Liang W., Koike Y., Lu H., Koike T., Hayek T., Pennathur S., Xi C., Wen B.,

- Sun D., Garcia-Barrio M.T., Aviram M., Gottlieb E., Mor I., Liu W., Zhang J., Chen Y.E. Glycine-based treatment ameliorates NAFLD by modulating fatty acid oxidation, glutathione synthesis, and the gut microbiome. *Science Translational Medicine*. 2020;12(572):eaaz2841. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz2841.
10. Ikeda M., Ohtsuji H. Significance of urinary hippuric acid determination as an index of toluene exposure. *British Journal of Industrial Medicine*. 1969;26(3):244–246. DOI: 10.1136/oem.26.3.244.
11. Pruss K.M., Chen H., Liu Y., Van Treuren W., Higginbottom S.K., Jarman J.B., Fischer C.R., Mak J., Wong B., Cowan T.M., Fischbach M.A., Sonnenburg J.L., Dodd D. Host-microbe co-metabolism via MCAD generates circulating metabolites including hippuric acid. *Nature Communications*. 2023;14(1):512. DOI: 10.1038/s41467-023-36138-3.
12. Skuratov A.G. Carbon tetrachloride model of hepatitis and liver cirrhosis in rats. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2012;(9):37–40. (In Russ.)
13. Beyoğlu D., Idle J.R. The glycine deportation system and its pharmacological consequences. *Pharmacology & Therapeutics*. 2012;135(2):151–167. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.05.003.
14. Qureshi I.A., Clermont P., Letarte J. The importance of glyoxylate and other glycine precursors in the hepatic and renal conjugation of benzoate in normal and hyperammonemic mice. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1989;67(11):1426–1430. DOI: 10.1139/y89-228.
15. Siegert W., Ahmadi H., Helmbrecht A., Rodehutschord M. A quantitative study of the interactive effects of glycine and serine with threonine and choline on growth performance in broilers. *Poultry Science*. 2015;94(7):1557–1568. DOI: 10.3382/ps/pev109.
16. Alves A., Bassot A., Bulteau A.-L., Pirola L., Morio B. Glycine Metabolism and Its Alterations in Obesity and Metabolic Diseases. *Nutrients*. 2019;11(6):1356. DOI: 10.3390/nu11061356.
17. Griffith W.H., Lewis H.B. Studies in the synthesis of hippuric acid in the animal organism: V. The influence of amino-acids and related substances on the synthesis and rate of elimination of hippuric acid after the administration of benzoate. *Journal of Biological Chemistry*. 1923;57(1):1–24. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)85523-5.
18. Leung K.-Y., De Castro S.C.P., Santos C., Savery D., Prunty H., Gold-Diaz D., Bennett S., Heales S., Copp A.J., Greene N.D.E. Regulation of glycine metabolism by the glycine cleavage system and conjugation pathway in mouse models of non-ketotic hyperglycinemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2020;43(6):1186–1198. DOI: 10.1002/jimd.12295.
19. Badenhorst C.P.S., Erasmus E., van der Sluis R., Nortje C., van Dijk A.A. A new perspective on the importance of glycine conjugation in the metabolism of aromatic acids. *Drug Metabolism Reviews*. 2014;46(3):343–361. DOI: 10.3109/03602532.2014.908903.
20. Siqueira M.E., Paiva M.J.N. Hippuric acid in urine: reference values. *Revista de Saude Publica*. 2002;36(6):723–727. DOI: 10.1590/s0034-89102002000700010.
21. Beyoğlu D., Smith R.L., Idle J.R. Dog bites man or man bites dog? The enigma of the amino acid conjugations. *Biochemical Pharmacology*. 2012;83(10):1331–1339. DOI: 10.1016/j.bcp.2011.12.031.
22. Bhattacharyya D., LeVatte M.A., Wishart D.S. A fast and accurate colorimetric assay for quantifying hippuric acid in human urine. *Analytical Biochemistry*. 2023;680:115303. DOI: 10.1016/j.ab.2023.115303.