

УДК 577.121 + 615.324

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПИДНОЙ ФРАКЦИИ ИЗ МОРСКОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *ULVA FENESTRATE* ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ КРЫС ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

<sup>1</sup>Спрыгин В.Г., <sup>1</sup>Фоменко С.Е., <sup>1,2</sup>Кушнерова Н.Ф.

<sup>1</sup>ФГБУН «Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева» ДВО РАН, Владивосток;

<sup>2</sup>Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета,  
Владивосток, e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

Показано, что липидная фракция, выделенная из водно-спиртового экстракта (70%) таллома зеленой водоросли ульвы продырявленной (*Ulva fenestrata P. et R.*), содержащая комплекс нейтральных и фосфолипидов с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот семейства n-3, оказывает гепатопротекторное действие в условиях CCL<sub>4</sub>-токсического гепатита у крыс. Отмечалось восстановление удельной массы печени и ее этерифицирующей функции, снижение активности аланинаминотрансферазы и уровня малонового диальдегида в крови, снятие жировой инфильтрации за счет снижения количества общих липидов и триацилглицеринов. Действие липидного комплекса из ульвы продырявленной в сохранении липидного обмена печени оказалось более эффективным, чем «эталонный гепатопротектор «Эссенциале®»». Ульва продырявленная представляет перспективный вид сырья для получения гепатопротекторных препаратов, содержащих эссенциальные фосфолипиды.

**Ключевые слова:** четыреххлористый углерод, печень, липидный обмен, экстракт *Ulva fenestrata*, эссенциале

## PROTECTIVE EFFECT OF LIPIDS FRACTION FROM GREEN SEAWEED *ULVA FENESTRATE* AGAINST CCL<sub>4</sub>-INDUCED LIVER DAMAGE IN WISTAR RATS

<sup>1</sup>Sprygin V.G., <sup>1</sup>Fomenko S.E., <sup>1,2</sup>Kushnerova N.F.

<sup>1</sup>V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEBRAS, Vladivostok;

<sup>2</sup>Biomedicine school of Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: vsprygin@poi.dvo.ru

It was shown, that lipids fraction separated from water-ethanol extract (70%) of green seaweed thallome ulva perforated (*Ulva fenestrata P. et R.*), containing combination of neutral and phospholipids with high content of polyunsaturated fatty acids of n-3 family, possess hepatoprotective activity at CCL<sub>4</sub>-induced liver damage in rats. Administration of lipids complex resulted in reducing of alaninaminotransferase activity and malone dialdehyde level in blood. It was registered the restoration of the specific liver weight and its esterifying function, diminution of fatty infiltration because of decreasing of general lipids and triacylglycerols quantity. It was shown that lipid complex from ulva perforated facilitates normalization of liver lipid metabolism indexes more effective, than reference hepatoprotector «Essentiale®». Ulva perforated is a promising raw material for obtaining of phospholipid containing hepatoprotectors.

**Keywords:** carbon tetrachloride, liver, lipid metabolism, *Ulva fenestrata* extract, Essentiale

В настоящее время ведется активный поиск гепатопротекторных средств, повышающих устойчивость печени к воздействию экотоксикантов, усиливающих ее обезвреживающие функции путем повышения активности ферментных систем детоксикации, а также обладающих свойствами репарации мембранных структур. В России в аптечной сети широко известен препарат «Эссенциале®», который считается эталонным гепатопротектором фосфолипидной природы [6]. В последнее время все чаще внимание исследователей привлекают морские гидробионты, в частности морские водоросли, в состав которых входит достаточно высокий процент веществ липидной природы, в частности фосфолипиды, содержащие полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) семейства n-3 [7]. Однако работ, посвященных изучению гепатопротекторной активности липидов морского происхождения из водорослей, практически нет, что обуславливает актуальность проведения

исследований в плане расширения ресурсного диапазона для получения природных гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды. Наибольший интерес в этом отношении представляют собой массовые виды морских водорослей, имеющих пищевое значение, в частности Ульва продырявленная (*Ulva fenestrata P. et R.*: Отдел *Chlorophyta* – зеленые водоросли, класс *Ulotrichophyceae*, порядок *Ulvales* – ульвовые), которая в ряде районов является ценообразующим элементом донных сообществ [2].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение гепатопротекторных свойств липидной фракции, выделенной из водно-спиртового (70%) экстракта таллома зеленой морской водоросли Ульвы продырявленной (*Ulva fenestrata P. et R.*) при интоксикации крыс четыреххлористым углеродом.

### Материалы и методы исследования

Образцы водоросли *Ulva fenestrata* собирали в летний период в заливе Петра Великого Японского

моря, промывали морской водой и затем нагревали 2 мин в кипящей воде для инактивации ферментов. Высушенный таллом измельчали с помощью лабораторной мельницы до размеров частиц 0,5–1 мм и экстрагировали 70% этиловым спиртом в соотношении 1:2 (по объему) сырье–экстрагент в течение 8 часов при непрерывном перемешивании. Экстракт отделяли на воронке Бюхнера под вакуумом. Жмых заливали новой порцией спирта до образования зеркала и реэкстрагировали при перемешивании в течение двух часов. Экстракты объединяли, затем упаривали спирт под вакуумом при температуре < 37°C. Полученную маслообразную массу экстрагировали смесью хлороформ:этанол (2:1 по объему). Для разделения фаз к экстракту добавляли раствор хлористого натрия (0,73%) в количестве 20% от объема. После разделения фаз хлороформный слой, содержащий липиды, отделяли на делительной воронке и упаривали на ротормном испарителе ( $T < 37^\circ\text{C}$ ) до отсутствия запаха хлороформа. Выход липидного экстракта составил 35% от массы сухой водоросли.

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар массой тела 130–180 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и на стандартном рационе питания. В качестве сравнения использовали коммерческий препарат «Эссенциале®» (полиненасыщенный фосфатидилхолин соевых бобов производства «Рон-Пуленк Рорер», Германия) [1]. Для создания острого токсического гепатита животным вводили подкожно (в дорзальную шейную складку) четыреххлористый углерод (ЧХУ) в дозе 2 мл/кг в 50% масляном растворе (оливковое масло) ежедневно в течение 4 дней (Хабриев, 2005). С 5-го дня эксперимента одна группа животных получала в течение 7-ми дней эссенциале (в вазелиновом масле) в дозе 80 мг/кг [5], другая группа – липидный комплекс из Ульвы продырявленной в той же дозе (в вазелиновом масле). Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество вазелинового масла. В ходе исследования были выделены следующие группы животных по 10 крыс в каждой: 1-я – контроль; 2-я – введение ЧХУ в течение 4 дней; 3-я – введение ЧХУ с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней; 4-я – введение липидной фракции из ульвы в период депривации в течение 7 дней; 5-я – введение эссенциале в период депривации в течение 7 дней. Через сутки после последнего введения препаратов крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН.

Липиды из ткани печени экстрагировали по методу J. Folch et al. [9]. Количество общих липидов определяли весовым методом в мг на 1 г ткани. Разделение нейтральных липидов проводили методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле в системе растворителей гексан – серный эфир – уксусная кислота (90:10:1 по объему) [8]. Идентификацию пятен липидов проводили с помощью очищенных стандартов. Количественное содержание отдельных фракций выражали в % от суммы нейтральных липидов. В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ; BIO-LA-TEST, Чехия) и малоновый диаль-

дегид (МДА) [3]. Обработку результатов проводили с использованием статистического пакета InStat 3.0 (GraphPad Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$

### Результаты исследования и их обсуждение

При изучении состава липидного комплекса из экстракта ульвы продырявленной было выявлено, что более 80% относится к категории мембраноактивных компонентов. В качестве мембраноактивной фракции принимали сумму эссенциальных фосфолипидов и нейтральных липидов, более 30% которых составляли триацилглицериды, выполняющие роль запасных липидов в растениях. Эссенциальные фосфолипиды составляли 12% мембраноактивной фракции липидов. Важным элементом этой композиции является высокое содержание (более 50%) в составе фосфолипидов ПНЖК семейства  $n-3$  – предшественниц биологически активных эйкозаноидов. Липидная фракция обладает низкой токсичностью ( $LD_{50}$  составляет более 5000 мг/кг) и безопасностью при длительных введениях в желудок и парэнтерально. В процессе эксперимента после 4-дневного введения ЧХУ масса животных снизилась на 21% ( $196 \pm 4,4$  г против  $247 \pm 4,9$  г в контроле;  $p < 0,001$ ), а удельная масса печени животных возросла на 50% ( $4,7 \pm 0,23$  г/100 г массы против  $3,13 \pm 0,18$  г/100 г массы в контроле;  $p < 0,05$ ). При внешнем осмотре у животных шерсть была тусклой, слипшейся в отдельные образования. Животные были слабо подвижны, плохо ели корм. В печени отмечалась сплошная зернистость жировых включений, то есть проявлялась выраженная жировая инфильтрация, характерная при интоксикации ЧХУ. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 3,5 раза, что составляло  $142,09 \pm 7,22$  мг/г ткани против  $42,17 \pm 1,97$  мг/г ткани в контроле. О развитии токсического гепатита в данной экспериментальной модели свидетельствует повышение активности в крови маркерного фермента печени АлАТ в 7 раз ( $307,71 \pm 65,30$  ед./л против  $43,80 \pm 4,25$  ед./л в контроле;  $p < 0,001$ ), обусловленное выходом фермента из гепатоцитов в кровь в результате повышения проницаемости мембран. Биохимическим механизмом этого феномена является активация перекисного окисления жирных

кислот мембранных фосфолипидов, что в нашем эксперименте подтверждается увеличением количества МДА в 2 раза ( $7,27 \pm 0,15$  нмоль/мл плазмы против  $3,43 \pm 0,30$  нмоль/мл плазмы в контроле;  $p < 0,001$ ). Развитие жировой инфильтрации печени обусловлено увеличением количества триацилглицеринов (ТАГ), свободных жирных кислот (СЖК) и холестерина (ХС) при одновременном снижении эфиров жирных кислот (ЭЖК) и эфиров холестерина (ЭХС) в связи с угнетением этерифицирующей функции печени (таблица). Как видно из таблицы, после интоксикации ЧХУ в печени крыс увеличилось количество ТАГ на 11% ( $p < 0,01$ ), СЖК и ХС на 15–16% ( $p < 0,01–0,001$ ) при одновременном снижении ЭЖК на 16% ( $p < 0,01$ ) и ЭХС на 25%

( $p < 0,01$ ). Механизм данных нарушений обусловлен распадом ТАГ в жировой ткани (химический стресс), выходом жирных кислот и глицерина в кровь и их ресинтезом в ТАГ в печени. Факт низкого уровня ЭХС (снижение на 25%,  $p < 0,001$ ) свидетельствует о нарушении этерифицирующей функции печени в связи с ингибированием фермента АХАТ (ацил-КоА: холестерин-ацилтрансфераза) при интоксикации ЧХУ.

Через 7 дней после отмены ЧХУ (период депривации) в печени подопытных животных (3-я группа) большинство изученных биохимических параметров не нормализовалось, что свидетельствовало о продолжающемся токсическом стрессе и недостаточности собственных защитных сил организма противостоять развитию токсической патологии.

Содержание фракций нейтральных липидов в печени крыс после поражения четыреххлористым углеродом и введения комплекса липидов из ульвы и эссенциале ( $M \pm m$ )

Липидные фракции	1 группа Контроль	2 группа ЧХУ	3 группа Депривация	4 группа Депривация + ульва	5 группа Депривация + эссенциале
ТАГ	$23,84 \pm 0,33$	$26,51 \pm 0,68^{**}$	$29,18 \pm 0,96^{***}$	$^{***}24,90 \pm 0,43$	$^{**}25,57 \pm 0,32^{**}$
СЖК	$14,26 \pm 0,44$	$16,55 \pm 0,53^{**}$	$17,90 \pm 0,54^{***}$	$^{**}15,42 \pm 0,41$	$^{*}15,87 \pm 0,56^{*}$
ЭЖК	$16,16 \pm 0,51$	$13,55 \pm 0,52^{**}$	$13,19 \pm 0,62^{**}$	$^{*}14,91 \pm 0,48$	$14,00 \pm 0,50^{**}$
ХС	$17,55 \pm 0,48$	$20,16 \pm 0,40^{***}$	$19,54 \pm 0,55^{**}$	$^{*}18,00 \pm 0,46$	$18,80 \pm 0,34^{*,1}$
ЭХС	$17,24 \pm 0,33$	$12,89 \pm 0,59^{***}$	$13,14 \pm 0,68^{***}$	$^{***}16,69 \pm 0,34$	$^{*}15,24 \pm 0,35^{***,2}$
Остаточная фракция	$10,95 \pm 0,23$	$10,34 \pm 0,51$	$7,05 \pm 0,89$	$10,08 \pm 0,70$	$10,52 \pm 0,44$

Примечания: различия статистически значимы при  $^{*,1} - p < 0,05$ ;  $^{**,2} - p < 0,01$ ;  $^{***,3} - p < 0,001$ . Звездочки справа – сравнение с контрольной группой, звездочки слева – сравнение с 3-й группой (депривация), цифры справа – сравнение с 4-й группой.

С о к р а щ е н и я : ТАГ – триацилглицерины, СЖК – свободные жирные кислоты, ЭЖК – эфиры жирных кислот, ХС – холестерин, ЭХС – эфиры холестерина.

Масса животных в период отмены токсиканта (депривация) изменилась незначительно по сравнению со 2-й группой (ЧХУ) (увеличение на 8%) и составила  $210,83 \pm 4,90$  г, тогда как относительно контроля сохранялась достоверно низкой (на 15%,  $p < 0,001$ ). Удельная масса печени животных снизилась на 6% ( $p < 0,05$ ) относительно 2-й группы (ЧХУ), что составило  $4,09 \pm 0,11$  г/100 г массы, но в то же время еще достоверно превышала контрольный уровень на 30% ( $p < 0,001$ ). В печени при вскрытии имелись зернистые включения липидов. Количество общих липидов в печени превышало контрольный уровень в 3 раза ( $p < 0,001$ ), что составляло  $120,46 \pm 12,33$  мг/г ткани. Достоверно высокими по сравнению с контролем сохранялись активность АЛАТ (на 32%,  $p < 0,05$ ) и уровень МДА (на 64%,

$p < 0,001$ ), что составляло  $58,03 \pm 1,75$  ед./л и  $5,61 \pm 0,19$  нмоль/мл плазмы соответственно. В период депривации количество ТАГ стало еще выше, чем во 2-й группе (увеличение на 22%,  $p < 0,001$ ) (таблица). Также увеличилось количество СЖК (на 26%,  $p < 0,001$ ). В то же время величины ЭЖК и ЭХС остались на уровне таковых, зарегистрированных во 2-й группе. То есть этерифицирующая функция печени не восстановилась и процесс развития жировой инфильтрации продолжился.

Введение липидного комплекса из экстракта ульвы и эссенциале в период отмены ЧХУ показало в общем, идентичный биологический эффект, но с разной степенью выраженности. Так, в 4-й группе (ульва) масса тела крыс составляла  $250,00 \pm 4,13$  г, тогда как в 5-й группе (эссенциале) –  $230,00 \pm 4,00$  г, что на 7% ( $p < 0,05$ ) ниже

контрольных величин. Удельная масса печени составляла  $3,48 \pm 0,09$  г/100 г массы в 4-й группе и  $2,99 \pm 0,11$  г/100 г массы в 5-й группе. У животных шерсть стала гладкой, пушистой, они начали хорошо есть и активно двигаться. Количество общих липидов в печени крыс 4-й группы относительно контроля полностью нормализовалось ( $42,87 \pm 2,20$  мг/г ткани), тогда как в 5-й группе эта величина была на 20% ( $p < 0,05$ ) выше ( $50,68 \pm 2,51$  мг/г ткани). Активность АлАТ при введении комплекса липидов из ульвы достоверно не отличалась от контроля ( $46,79 \pm 2,54$  ед./л), а при введении эссенциале была выше на 23% ( $53,77 \pm 2,51$  ед./л;  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о неполном восстановлении структуры мембран гепатоцитов. Величина МДА в 4-й группе также восстановилась до контрольных величин ( $3,38 \pm 0,10$  нмоль/мл плазмы), а при введении эссенциале была на 20% ( $p < 0,05$ ) выше контроля ( $4,13 \pm 0,11$  нмоль/мл плазмы). При исследовании показателей нейтральных липидов печени после введения препаратов обращает на себя внимание выраженное снижение количества ТАГ, СЖК и ХС при одновременном увеличении ЭЖК и ЭХС по сравнению с таковыми в 3-й группе (депривация). Однако по сравнению с контролем остаются достоверные различия в печени животных 5-й группы (эссенциале). Так, количество ТАГ было повышенным на 7% ( $p < 0,01$ ), СЖК – на 11% ( $p < 0,05$ ), ХС – на 7% ( $p < 0,05$ ). При этом количество ЭЖК было снижено на 13% ( $p < 0,01$ ), а ЭХС – на 12% ( $p < 0,001$ ). Таким образом, эссенциале не полностью снял жировую инфильтрацию и не окончательно восстановил этерифицирующую функцию печени. Липидный комплекс из экстракта ульвы полностью нормализовал исследованные биохимические параметры нейтральных липидов и показал более высокую эффективность в восстановлении функции печени.

При сравнении исследованных биохимических параметров между 4-й и 5-й группами (липиды ульвы и эссенциале) отмечались выраженные достоверные различия. Так, при введении эссенциале масса животных после интоксикации ЧХУ была на 8% ( $p < 0,01$ ) меньше, а масса печени на 7% ( $p < 0,01$ ) больше, чем таковые показатели при введении липидов ульвы. Количество общих липидов печени было выше на 18% ( $p < 0,05$ ), активность АлАТ – на 15% ( $p < 0,05$ ), а количество МДА – на 22% ( $p < 0,001$ ). Среди нейтральных липидов обращает на себя внимание более высокий уровень холестерина (на 4%,  $p < 0,05$ ) и низкий – эфиров холе-

стерина (на 9%,  $p < 0,01$ ). То есть, введение липидного комплекса из ульвы и эссенциале способствовало коррекции нарушений, вызванных интоксикацией ЧХУ, однако действие липидов из ульвы оказалось более эффективным. По-видимому, основной причиной наблюдаемых различий является то, что биологической активности полиненасыщенного фосфатидилхолина из соевых бобов, входящего в состав эссенциале, противопоставлен многокомпонентный липидный комплекс из экстракта ульвы продырявленной. Большая эффективность экстракта, по нашему мнению, обусловлена наличием в его составе практически всех известных классов фосфолипидов морского происхождения, обладающих репаративными свойствами. При этом свободные жирные кислоты с высокой степенью ненасыщенности (семейство n-3) участвуют в преобразовании лизофосфолипидов в основные структурные компоненты мембран и метаболически активные фракции фосфолипидов.

### Выводы

1. Применение липидного комплекса из экстракта ульвы продырявленной при экспериментальном ССІ<sub>4</sub>-гепатите сопровождалось выраженным гепатозащитным действием, которое проявлялось в восстановлении массы животных и весовых показателей печени, нормализации липидного обмена и снижении перекисного окисления липидов.

2. Механизм терапевтического действия липидного комплекса из экстракта ульвы продырявленной обусловлен:

- восстановлением структуры мембран гепатоцитов за счет встраивания фосфолипидов в липидный бислой плазматической мембраны, что тормозит выход в кровь печеночных ферментов (АлАТ);
- снятием жировой инфильтрации печени;
- активацией этерифицирующей функции печени, что способствует синтезу фосфолипидов из триацилглицеринов.

3. По исследованным показателям липидный комплекс из экстракта ульвы продырявленной показывает более высокую биологическую активность, чем таковая у препарата сравнения «Эссенциале®».

4. Ульва продырявленная является перспективным видом сырья для получения гепатопротекторных препаратов, содержащих фосфолипиды.

### Список литературы

1. Венгеровский А.И., Марков И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств // Вестник Фармкомитета. – 1999. – № 2. – С. 9–12.

2. Виноградова К.Л. Определитель водорослей дальневосточных морей СССР. Зеленые водоросли. Л.: Наука, 1979. – 147 с.
3. Гончаренко М.С., Латина А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60–61.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Р.У. Хабриев (ред). – М.: Медицина, 2005. – 829 с.
5. Саратиков А.С., Ратькин А.В., Фролов В.Н., Чучалин В.С. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на токсичность циклофосфана // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2004. – № 2. – С. 43–47.
6. Ушкалова Е.А. Проблемы применения гепатопротекторов // Фарматека. – 2004. – № 6. – С. 45–55.
7. Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. – Владивосток: Дальнаука, 2003. – 234 с.
8. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. – 1964. – Vol. 5, № 2. – P. 270–272.
9. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497–509.
3. Goncharenko M.S., Latinova A.M. Laboratornoe delo, 1985, no. 1. pp. 60–61.
4. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv, R.U. Habriev (red). Moskva.: Medicina, 2005, 829 p.
5. Saratikov A.S., Rat'kin F.V., Frolov V.N., Chuchalin D.S., Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii, 2004, no 2, pp. 43–47.
6. Ushkalova E.A., Farmateka, 2004, no 6, pp. 45–55.
7. Hotimchenko S.V. Lipidy morskih vodoroslej-makrofitov i trav. Struktura, raspredelenie, analiz, Vladivostok.: Dalnauka, 2003, 234 p.
8. Amenta J.S. J. Lipid Res. 1964, Vol. 5, no 2, pp. 270–272.
9. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. J. Biol. Chem., 1957. Vol. 226, no 2, pp. 497–509.

### References

1. Vengerovskij A.I., Markova I.V., Saratikov A.S. Vedomosti farm. Komiteta, 1999, no 2, pp. 9–12.
2. Vinogradova K.L. Vinogradova K.L. Opredelitel' vodoroslej dal'nevostochnyh morej SSSR. Zelenye vodorosli.. L.: Nauka, 1979. 147 p.

### Рецензенты:

Богданович Л.Н., д.б.н., заведующая лабораторией инновационных медико-биологических исследований и технологий, ФГБУЗ Медицинского объединения ДВО РАН, г. Владивосток;

Палагина М.В., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией фундаментальных и прикладных проблем товароведения, Школа экономики и менеджмента Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 15.05.2014.