

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФРАКЦИИ ПРОДУКТОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ *GALLERIA MELLONELLA* L. ПРИ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Осокина Анастасия Сергеевна¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Гущин Александр Владимирович², директор

Михеева Екатерина Александровна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА,

¹Удмуртский Федеральный исследовательский центр УрО РАН
Ижевск, Россия, e-mail: anastasia.osokina2017@yandex.ru

²ООО «М-Технология», Ижевск, e-mail: m-technology@mail.ru

³Ижевск, Россия, e-mail: mikhkatia@yandex.ru

Ключевые слова: острый стресс, адаптация, продукты жизнедеятельности личинки *Galleria mellonella*, морфометрия надпочечников, показатели крови

Цель исследования – изучение уровня стресса по показателям периферической крови и гистологии внутренних органов мышей при применении различных фракций экстракта на основе продуктов жизнедеятельности (ПЖ) личинок *Galleria mellonella* L. Для проведения опыта были сформированы три группы лабораторных мышей по принципу пар-аналогов (n=5). Экстракт легкой фракции ПЖ и 40% раствор спирта (контроль) вводили трансдермально через кожу хвоста мышей с интервалом через день в течение 30 суток по 5 мкл на голову. Для проведения опыта выбран способ экспериментального моделирования общей гипертермии. Обнаружены статистически значимые различия показателей лейкоцитарной формулы мышей опытной группы легкой фракции ПЖ личинок *G. mellonella* по сравнению с контролем. Сумма юных и палочковидных нейтрофилов в контрольной группе больше, чем этот же показатель в опытной группе, что свидетельствует о стимуляции выработки нейтрофилов в контрольной группе мышей, а это обычно связано с наличием патологических процессов в организме. Полученные нами данные свидетельствуют о реактивности и мобилизации защитных сил организма мышей под влиянием легкой фракции продуктов жизнедеятельности личинок *G. mellonella*, в связи с чем повышается стрессоустойчивость мышей. При трансдермальном введении раствора легкой фракции происходит уменьшение пучковой зоны, что может приводить к уменьшению секреции глюкокортикоидов. Полученные результаты являются основой для дальнейших для лабораторных и теоретических исследований легкой фракции в качестве адаптогенного средства в животноводстве с целью повышения продуктивных качеств животных.

Введение

Стрессовые нагрузки неизбежны и связаны с нарушением экологии, чрезмерными физическими и психоэмоциональными нагрузками, конкурентными взаимоотношениями и др. Компенсаторные реакции при стрессе характеризуются мобилизацией защитных свойств организма, что спасает от гибели при чрезмерных нагрузках. В настоящее время в современном животноводстве остро стоит вопрос о профилактике и способах снижения стресс-фактора, в том числе для продуктивных животных [1]. На фармацевтическом рынке предложено множество средств защиты от стресса растительного и животного происхождения [2]. Известно также, что экстракт личинок большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) увеличивает стрессоустойчивость животных [3]. Как правило, исследования стрессоустойчивости проводились на лабораторных животных, подвергающиеся воздействию экстракта из нативных личинок *G. mellonella* последней стадии развития перед

окукливанием, массой более 150 мг. Эксперименты этих и других авторов [4,5,6] по изучению влияния экстракта личинок *G. mellonella* на адаптационные возможности показывают значительное повышение стрессоустойчивости изучаемых животных. Группа исследователей [7] доказали антистрессорное действие при курсовом приеме экстракта из личинок *G. mellonella*, которая предотвращала или значительно ослабляла действие стресса на митохондрии, а также на клетки крови. Проведенные группой исследователей эксперименты в 2018 г. [8] доказали, что водный и спиртовой экстракты из личинок *G. mellonella*, хотя и в разной степени, но оказывают стресс протекторное действие на вегетативном уровне. При этом экстракты из личинок *G. mellonella* трансформируются в поведенческую реакцию. Доказано, что под воздействием спиртового экстракта из личинок *G. mellonella* происходят изменения в структуре надпочечников, свидетельствующие об ответной реакции организма при стрессе [9,10].

Ряд исследователей свойств экстракта из личинок *G.mellonella* отмечают более высокую активность препаратов, выделенных из продуктов жизнедеятельности (ПЖ) личинок *G. mellonella* [11,12].

В связи с этим целью проведенного исследования явилось изучение уровня стресса по морфометрическим показателям гистологии надпочечников и селезенки мышей при трансдермальном введении легкой фракции продуктов жизнедеятельности личинок *G. mellonella*.

Материалы и методы исследований

Объект исследования – продукты жизнедеятельности (ПЖ) личинки *G.mellonella*. Для получения изучаемого сырья личинки *G.mellonella* выращивались в лабораторных условиях Удмуртского ФИЦ УрО РАН. Из экстракта ПЖ личинок *G. mellonella* растворителями была выделена лёгкая фракция (ЛФ). Основу ЛФ составляли относительно низкомолекулярные химически активные соединения. Эксперимент проводили на кафедре эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Ижевской ГСХА.

Для проведения эксперимента был выбран способ экспериментального моделирования общей гипертермии по стандартной методике [13]. Было сформировано три группы подопытных животных, в качестве которых использовались белые беспородные мыши. Подборка лабораторных мышей осуществлялась по принципу пар-аналогов с учетом возраста (2 месяца), происхождения и пола (использовались только самцы), живой массы (10,2 г). Подопытные животные содержались в одинаковых условиях, с однотипным кормлением (стандартный рацион для мышей на период краткосрочных экспериментов). В каждой группе было по 5 мышей, которые содержались в стандартных условиях вивария. Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, соблюдением рекомендаций и требований [14,15]. В опытной группе вводили 1% раствор ЛФ трансдермально через кожу хвоста мышей с интервалом через день в течение 30 суток по 5 мкл на особь. Для контрольной группы производилось трансдермальное введение 40 % раствора спирта также через кожу хвоста.

Изготовление гистологических срезов осуществлялось на микротоме СМ-1. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Морфометрию производили при помощи фотографирования, с использованием цифровой фотокамеры Levenhuk C 510NG на микроскопе

JENAMED 2, окуляр GF – PW 10, объективы 10 x 0,20, 40 x 0,65. Для проведения измерений клеток исследуемых органов использовалась программа TopView. Анализ морфометрии серийных гистологических срезов изучаемых органов проводился по методике Г.Г. Автандилова (1990) [16]. В микросрезах надпочечников проводили замеры толщины коркового вещества (клубочковая зона, пучковая зона, сетчатая зона) и мозгового вещества. Для проверки экспериментальных результатов на наличие грубых экспериментальных ошибок использовался вариационный критерий Диксона.

Для интерпретации результатов в мазках крови проводили дифференциальный подсчет клеток крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Подсчет количества форменных элементов крови проводили в камере Горяева по общепринятым методикам.

Для определения достоверности различий физиологических параметров мышей как результатов проведения эксперимента использовался критерий Стьюдента, для чего вычислялось эмпирическое значение критерия Стьюдента, которое определялись по формуле (1)

$$t_{э} = \frac{|П_1 - П_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (1)$$

где $t_{э}$ – эмпирическое значение критерия Стьюдента, $П_1$ и $П_2$ – первый и второй сравниваемые параметры соответственно, s_1^2 и s_2^2 – дисперсии для первого и второго параметров соответственно, n_1 и n_2 – количество мышей участвующих в эксперименте.

Количество степеней свободы f определялось по формуле (2)

$$f = n_1 + n_2 - 2 \quad (2)$$

Вычисленное по формуле (1) эмпирическое значение сравнивалось с табличным критическим значением для критерия Стьюдента, после чего делался вывод о степени достоверности полученных результатов разности параметров.

Результаты исследований

Уровень стресса проявляется на разных физиологических уровнях организма, начиная с клеточного уровня и заканчивая системами органов.

После реализации модели эксперимента в виде гипертермии у мышей одновременно

было отмечено сильное различие в клинических проявлениях воздействия гипертермии в опытной группе и контроле. Проведенный эксперимент выявил, что в контроле из пяти мышей погибли две особи. При этом в контрольной группе наблюдали следующие клинические симптомы: выделение пота, атаксию, легкую синюшность лапок, мордочек, при этом время реабилитации составила 15-30 мин. В опытной группе погибла только одна лабораторная мышь. В этой группе наблюдалась легкая потливость, слизистые оболочки и кожа имели светло-розовый цвет. Время реабилитации для мышей первой группы сокращалось в 3 раза по сравнению с контролем (5–10 мин).

Лейкоцитарная формула также отражает картину воздействия стресса (табл. 1).

Таблица 1

Лейкоцитарная формула крови (лейкограмма),%

Группа	Контрольная группа		Опытная группа		Эмпирический критерий Стьюдента
	Средние значения	Дисперсия	Средние значения	Дисперсия	
Юные нейтрофилы	0,31	0,01	0	0	5,2*
Палочковидные нейтрофилы	5,3	3,24	3,0	0,36	2,13**
Сегментные нейтрофилы	41,7	3,84	37,3	10,2	2,25**
Эозинофилы	1,6	0,09	1,6	0,09	0
Моноциты	4,3	0,09	3,0	0,01	7,21*
Лимфоциты	45,7	4,1	54,7	7,29	5,04*
Базофилы	0	0	1,0	0,01	20*

*При достоверной разнице с контролем ** $P < 0,01$; * $P < 0,1$*

Как следует из таблицы 1 в группе контроля наблюдается достоверно увеличенное количество нейтрофилов по сравнению с первой опытной группой с незначительным сдвигом влево. При этом количество лимфоцитов в лейкограмме контрольной группы было сниженным по сравнению с первой опытной группой, а количество моноцитов было в контрольной группе достоверно увеличенным по сравнению с первой опытной группой. Таким образом, слабая нейтрофилия с незначительным сдвигом влево и лимфопенией слабой степени в лейкограмме, а также повышение уровня моноцитов и уменьшение уровня базофилов может свидетельствовать о перенесенном стрессе для

контрольной группы, что согласуется с результатами, отраженными в таблице 1. В этом отношении мыши опытной группы имели показатели формулы крови, соответствующие большей стойкости к стрессовому фактору гипертермии.

Кроме того, сумма юных и палочковидных нейтрофилов в контрольной группе больше, чем этот же показатель в опытной группе, что свидетельствует о стимуляции выработки нейтрофилов в контрольной группе мышей, а это обычно связано с наличием патологических процессов в организме.

Были произведены сравнительные морфометрические исследования надпочечников, селезенки, которые проводились для всех групп мышей. В таблице 2 показаны результаты таких исследований для надпочечников мышей.

Таблица 2

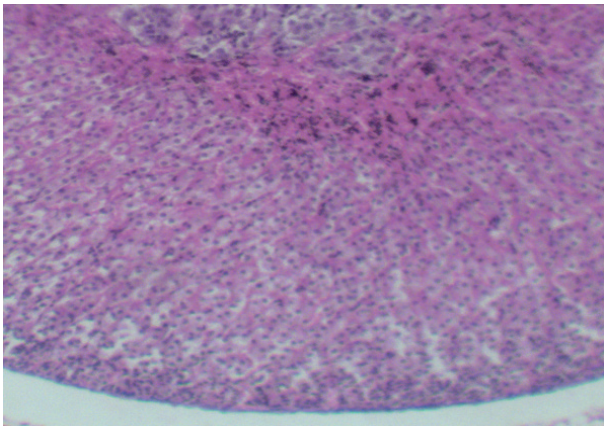
Морфометрические показатели надпочечников, мкм

Изучаемые показатели	Контрольная группа		Опытная группа		Эмпирические коэффициенты Стьюдента
	Средние значения	Дисперсия	Средние значения	Дисперсия	
Зоны надпочечников					Опытная группа
Клубочковая зона	53,17	116,9	74,69	70,93	2,86**
Пучковая зона	303,22	909,0	191,33	485,8	5,47*
Сетчатая зона	59,6	853,7	21,41	38,18	3,97*
Мозговое вещество	386,04	14945	230,72	3346,7	1,25

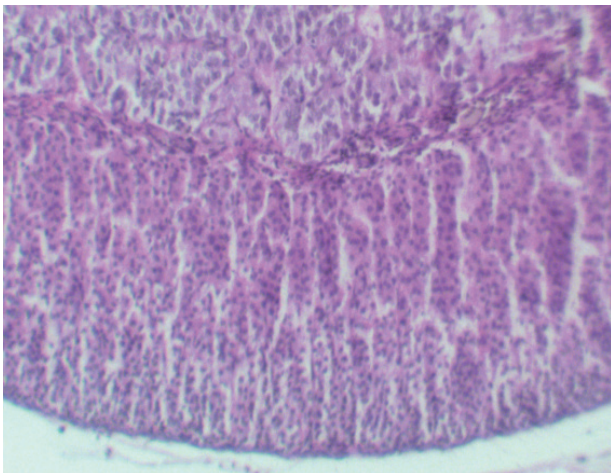
*При достоверной разнице с контролем * $P < 0,01$; ** $P < 0,05$.*

Из этой таблицы видно, что клубочковая зона опытной группы на 21,52 мкм больше, чем в контроле. Толщина пучковой зоны опытной группы в 1,58 раз меньше, чем в контроле. Сетчатая зона надпочечников опытных мышей в среднем в 1,7 раз тоньше, чем у контрольных животных. Аналогичная ситуация отмечается в мозговом веществе.

Как следует из таблицы 2, при длительном воздействии ЛФ происходит уменьшение пучковой зоны, что может приводить к уменьшению секреции глюкокортикоидов. В нормальном, вне стрессовом состоянии мышей опытной группы, глюкокортикоидов может вырабатываться достоверно на 37% меньше по сравнению с контрольной группой.



Контрольная группа



Опытная группа

Рис. 1 – Гистологический срез надпочечников. Увеличение x 150. Окраска гематоксилин и эозин

Мозговое вещество надпочечников синтезирует катехоламины (адреналин и норадреналин). В опытной группе выработка гормонов стресса - адреналина и норадреналина в связи с их морфометрическими показателями тоже снижается.

Обсуждение

Анализ лейкограммы крови контрольной группы указывает на слабую нейтрофилию с незначительным сдвигом влево и лимфопенией слабой степени в лейкограмме, а также повышение уровня моноцитов и уменьшение уровня базофилов может свидетельствовать о перенесенном стрессе, что согласуется с результатами, отраженными в таблице 1. В этом отношении, мыши опытной группы, имели показатели формулы крови, соответствующие большей стойкости к стрессовому фактору гипертермии. Кроме того, стимуляция выработки нейтрофилов в кон-

трольной группе мышей свидетельствует о большом количестве суммы юных и палочковидных нейтрофилов, по сравнению с опытной группой, что обычно связано с наличием патологических процессов в организме.

Морфометрия надпочечников демонстрирует, что под действием АКТГ в момент стресса глюкокортикоидов (при уменьшении пучкового слоя) тоже будет вырабатываться соответственно меньше как результата длительного действия ЛФ на организм мыши, что соответствует менее острой и поэтому менее разрушительной стрессовой реакции животного по линии глюкокортикоидов в проводимом эксперименте. С другой стороны, глюкокортикоиды как гормоны стресса, участвуют в метаболизме гликогена с образованием глюкозы и регулируют восприимчивость к воспалительным реакциям организма. В опытной группе толщина пучковой зоны минимальная, что в свою очередь соответственно уменьшает метаболизм гликогена, белков и жиров, которые используются для энергетического питания организма в виде глюкозы. В таком случае, возможно меньшее повреждение тканей организма во время стресса.

Это может говорить о более мягкой реакции организмов мышей в опытной группе на стрессовое состояние организма по сравнению с мышами контрольной группы. Например, под действием адреналина происходит сужение периферических сосудов, а значит, снижается транспортировка крови, и, как следствие, потенциально происходит ухудшение снабжения тканей кислородом для контрольной группы мышей

Заключение

Под влиянием ЛФ происходило усиление реактивности и мобилизации защитных сил организма мышей вследствие задействования сложных механизмов регуляции гомеостаза и деинтоксикации организма мышей. В крови опытной группы выявили увеличение абсолютного содержания лейкоцитов и эритроцитов по сравнению с контролем. Морфометрические исследования свидетельствуют о перестройке при длительном воздействии ЛФ экстракта структуры надпочечников, которые ведут к повышению выносливостей мышей.

Полученные результаты являются основой для дальнейших для лабораторных и теоретических исследований легкой фракции в качестве адаптогенного средства в животноводстве с целью повышения продуктивных качеств животных.

Библиографический список

1. Бурловская, В.К., Адаптационные реакции у коров при технологических процессах / В.К. Бурловская, А.Ю. Ковтуненко, Ю.П. Рыжкова // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2019. – №2(12). – С.3-9.
2. Хабибуллин, Р.М. Применение адаптогенов растительного и животного происхождения на фоне повышенной физической нагрузки в тесте «Плавание» / Р.М. Хабибуллин, И.В. Миронова, И.М. Хабибуллин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. – №1. том 249. – С.229-233. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_1_249_233
3. Способ получения биологически активного продукта из личинок большой восковой моли: пат. RU 2038086 Рос. Федерация / Спиридонов Н.А., Рачков А.К., Мухин С.А. и др. заявл. 26.03.1991; опубл. 27.06.1995, Бюл. №18 – 9 с.
4. Костина, Д.А. Влияние биологически активных компонентов гемолимфы личинок *Galleria mellonella* на рост и ферментативную активность *Escherichia coli* / Д.А. Костина, О.С. Федоткина, Н.А. Кленова и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Том 15. – №3-1. – С. 567-574.
5. Кондрашова, М.Н. Создание антиоксидантного и иммуностимулирующего препарата из личинок восковой моли, обладающего лечебным и профилактическим действием при тяжелых бронхолегочных заболеваниях, а также профилактическим действием при простудных заболеваниях и гриппе / М.Н. Кондрашова, Е.Г. Литвинова, А.А. Овсепян и др. // Фундаментальные науки – медицине. Материалы конференции. 14-16 декабря. М.: Фирма «Слово» 2005. С. 33–35.
6. Овсепян, А.А. Антиоксидантное и иммунопротекторное действие экстракта личинок восковой моли при окислительном стрессе у крыс, вызванном потреблением корма, обогащенным железом / А.А. Овсепян, Н.И. Венедиктова, М.В. Захарченко, Р.Е. Казаков, М.Г. Кондрашова, Е.Г. Литвинова, И.Р. Саакян, Т.В. Сирота, И.Г. Ставровская, П.М. Шварцбург // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Том 16. №1. С.170–173.
7. Литвинова, Е.Г. Антистрессорное действие препарата гусениц восковой моли по реакциям митохондрий и нейтрофилов / Е.Г. Литвинова, А.А. Овсепян, А.В. Захарченко // Международная конференция «Рецепция и внутриклеточная сигнализация» Пущино 2-4 июня 2009. Том 2. С. 599-603.
8. Khudyakova, N.A., Study of the larvae *Galleria mellonella* extract activity of animals by the method of “Open field” and “Suoktest” / N.A. Khudyakova, A.S. Osokina, A.V. Guschin // Conference 8th International “Social Science and Humanity” 23-29 March 2018. – P. 41-47.
9. Осокина, А.С. Влияние спиртового экстракта большой восковой моли (*Galleria mellonella*) на внутренние органы мышей / А.С. Осокина, Е.А. Михеева, Т.В. Бабинцева // Вестник Новосибирского аграрного университета. – 2018. – № 2(47). – С. 91-100.
10. Осокина, А.С. Ресурсный потенциал личинок большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) при выращивании в лабораторных условиях: 03.02.14 - биологические ресурсы: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Осокина Анастасия Сергеевна, Тимирязевский сельскохозяйственный аграрный университет им. К.А. Тимирязева – Москва, 2016. - 23 с.
11. Осокина, А.С. Определение микробной чувствительности к экстрактам из личинок большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) и их продуктов жизнедеятельности / А.С. Осокина, И.В. Масленников // Вестник КрасГАУ. – 2021. – №7. – С. 100-107. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-7-100-107
12. Соломка, В.А. Большая восковая моль («ЗОЛОЯ БАБОЧКА») Технологии. Свойства. Киев: Медицина Украины. – 2012. 40 с.
13. Усай, Л.И. Энергетический обмен головного мозга в условиях длительного воздействия на организм высокой температуры: 03.00.04 – биохимия: автореферат на соискание кандидата медицинских наук / Усай Людмила Ивановна, Смоленский мед. ин-т - Смоленск, 1990. - 23с.
14. Биологическая этика: рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (сборник материалов и нормативных документов) / Новосибир. гос. аграр. ун-т; Биолого-технолог. факультет; сост.: Е.А. Борисенко, Ю.К. Кисьора. – Новосибирск, 2017. 63 с.
15. Руководство по лабораторным мышам и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / Под редакцией Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М., 2010. 344 с.
16. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М., Москва, 1990. 384 с.

ANALYSIS OF FRACTION EFFICIENCY OF GALLERIA MELLONELLA L. WASTE PRODUCTS UNDER EXPERIMENTAL STRESS

Osokina A.S.¹, Gushchin A.V.², Mikheeva E.A.³

¹ Udmurt Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russia, e-mail: anastasia.osokina2017@yandex.ru

² OOO "M-Technology", Izhevsk, Russia, e-mail: m-technology@mail.ru

³ FSBEI HE Izhevsk State Agricultural Academy, Izhevsk, Russia, e-mail: mikhkatia@yandex.ru

Key words: acute stress, adaptation, waste products of *Galleria mellonella* larvae, adrenal gland morphometry, blood parameters

The aim of the research was to study the stress level in terms of parameters of peripheral blood and histology of the internal organs of mice when using various fractions of the extract based on waste products of *Galleria mellonella* L. For the experiment, three groups of laboratory mice were formed according to the principle of analogue pairs (n=5). An extract of the light fraction of waste products and a 40% alcohol solution (control) were administered transdermally through the skin of the tail of mice every other day for 30 days at a dose of 5 µl. Method of experimental modeling of general hyperthermia was chosen for the experiment. Statistically significant differences in leukocyte formula indexes of mice in the experimental group of light fraction of waste products of *G. mellonella* larvae were found compared with the control. The sum of young and rod-shaped neutrophils in the control group is greater than the same parameter in the experimental group, which indicates stimulation of neutrophil production in the control group of mice, this is usually associated with pathological processes in the body. The obtained data show reactivity and mobilization of body defenses of mice under the influence of a light fraction of the waste products of *G. mellonella* larvae, and therefore, stress resistance increases. A decrease of fascicular zone occurs in case of transdermal administration of light fraction solution, which can lead to a decrease of secretion of glucocorticoids. The obtained results are the basis for further laboratory and theoretical studies of the light fraction as an adaptogenic agent in animal husbandry in order to improve productive qualities of animals.

Bibliography:

1. Burlovskaya, V.K. Adaptive reactions of cows during technological processes /V.K. Burlovskaya, A.Yu. Kovtunenکو, Yu.P. Ryzhkova // Current issues of agricultural biology. - 2019. - № 2 (12). -P.3-9.
2. Khabibullin, R.M. The usage of adaptogens of plant and animal origin in case of increased physical activity in the "Swimming" test / R.M. Khabibullin, I.V. Mironova, I.M. Khabibullin // Scientific notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman.-2022.-№1.vol.249.—P.229-233. DOI: 10.31588/2413_4201_1883_1_249_233
3. A method for obtaining a biologically active product from the larvae of a large wax moth: Pat. RU 2038086 Rus. Federation / Spiridonov N.A., Rachkov A.K., Mukhin S.A. et al. appl. 26.03.1991;publ. 27.06.1995, Bull. № 18 - 9 p.
4. Kostina, D.A. Influence of biologically active components of the hemolymph of *Galleria mellonella* larvae on growth and enzymatic activity of *Escherichia coli* / D.A. Kostina, O.S. Fedotkina, N.A. Klenova et al. // Izvestiya of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. - 2013. - Volume 15. - № 3-1. - P. 567-574.
5. Development of antioxidant and immunostimulating medication from wax moth larvae, which has a therapeutic and preventive effect in severe bronchopulmonary diseases, as well as a preventive effect in colds and flu / M.N. Kondrashova, E.G. Litvinova, A.A. Ovsepyan et al. // Fundamental sciences for medicine. Conference materials. December 14-16. Moscow: Firma Slovo, 2005, P. 33–35.
6. Antioxidant and immunoprotective effect of the extract of wax moth larvae in oxidative stress of rats caused by consumption of food enriched with iron / A.A. Ovsepyan, N.I. Venediktova, M.V. Zakharchenko, R.E. Kazakov, M.G. Kondrashova, E.G. Litvinova, I.R. Saakyan, T.V. Sirota, I.G. Stavrovskaya, P.M. Schwarzburg // Vestnik of new medical technologies. 2009. Volume 16. № 1. P.170–173.
7. Litvinova E.G. Antistress action of the preparation of wax moth caterpillars according to reactions of mitochondria and neutrophils / E.G. Litvinova, A.A. Ovsepyan, A.V. Zakharchenko // International conference "Reception and intracellular signaling" Pushchino June 2-4, 2009. Volume 2. P. 599-603.
8. Khudyakova, N.A., Study of the larvae *Galleria mellonella* extract activity of animals by the method of "Open field" and "Suoktest" / N.A. Khudyakova, A.S. Osokina, A.V. Guschin // Conference 8th International "Social Science and Humanity" 23-29 March 2018. -P. 41-47.
9. Osokina, A.S. Influence of alcohol extract of great wax moth (*Galleria mellonella*) on internal organs of mice / A.S. Osokina, E.A. Mikheeva, T.V. Babintseva // Vestnik of Novosibirsk Agrarian University. -2018. - № 2 (47). - P. 91-100.
10. Osokina, A.S. The resource potential of great wax moth larvae (*Galleria mellonella* L.) when grown in laboratory conditions: 03.02.14 - biological resources: abstract of the dissertation for the degree of candidate of biological sciences / Osokina Anastasia Sergeevna, Timiryazevsky Agricultural University named after K.A. Timiryazev - Moscow, 2016. - 23 p.
11. Osokina A.S. Specification of microbial sensitivity to extracts from great wax moth larvae (*Galleria mellonella* L.) and their waste products / A.S. Osokina, I.V. Maslennikov // Vestnik of KrasSAU. - 2021. - № 7. - P. 100-107. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-7-100-107
12. Solomka, V.A. Large wax moth ("GOLDEN BUTTERFLY") Technologies. Properties. Kiev: Medicine of Ukraine. - 2012. 40 p.
13. Usai, L.I. Energy metabolism of the brain under conditions of prolonged exposure to high temperature: 03.00.04 - biochemistry: abstract of the dissertation for the degree of candidate of medical sciences / Usai Lyudmila Ivanovna, Smolensk Medical Institute - Smolensk, 1990. - 23p.
14. Biological ethics: recommendations on conducting of biomedical research using animals (collection of materials and regulations) / Novosibirsk state agrarian University; Biological and technological faculty; comp.: E.A. Borisenko, Yu.K. Kisiora. - Novosibirsk, 2017. 63 p.
15. Textbook on laboratory mice and alternative models in biomedical technologies / Edited by N.N. Karkishchenko, S.V. Grachev. M., 2010. 344 p.
16. Avtandilov, G.G. Medical morphometry. Textbook. - M., Moscow, 1990. 384 p.