



УДК 616.379-008.64: 616.89: 577.175.3

## Протекторні властивості N-ацетилцистеїну, мелатоніну та їх сумісного використання щодо окисного пошкодження клітин головного мозку щурів з експериментальним цукровим діабетом 1 типу

О. А. ТЕМІРОВА<sup>1</sup>, М. В. ХАЙТОВИЧ<sup>1</sup>, А. П. БУРЛАКА<sup>2</sup>, А. В. ВОВК<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ, Україна

E-mail: [lfitsner@gmail.com](mailto:lfitsner@gmail.com)

За останні десять років поширеність цукрового діабету (ЦД) у світі стрімко зростає [1]. Цукровий діабет асоціюється зі збільшенням ризику розвитку хвороби Альцгеймера [2–4]. Дисфункція головного мозку, пов'язана з когнітивним дефіцитом, є одним з найпоширеніших та важких ускладнень ЦД [5]. З метою опису когнітивних порушень у пацієнтів з ЦД було введено термін «діабетична енцефалопатія», що включає прогресуючі дифузні зміни головного мозку, безпосередньо пов'язані з метаболічними розладами [5,6].

Значний інтерес становлять молекулярні механізми розвитку діабетичної енцефалопатії (ДЕ). Встановлено, що важливою ланкою розвитку енцефалопатії при цукровому діабеті 1 типу (ЦД1) є активація оксидативного стресу (ОС), що спричиняє вільнорадикальне пошкодження ліпідів, білків та нуклеїнових кислот [7]. Відомим маркером окисного пошкодження ДНК, який утворюється під дією вільних радикалів, є 8-оксогуанін (8-охоG) [8].

Вивчається роль «вільного заліза» («ВЗ») у патогенезі ЦД та його ускладнень [9]. Окремими дослідженнями виявлено здатність «ВЗ» викликати окисне пошкодження ДНК [10].

**Мета роботи** – вивчити вплив N-ацетилцистеїну, мелатоніну та їх сумісного використання на стан окисного пошкодження клітин головного мозку щурів з експериментальним ЦД1.

**Матеріали й методи дослідження.** Дослідження проводили на 40 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою 200–260 г. Тварин вирощували у утримували в умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Усі маніпуляції були проведені відповідно до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [11] та згідно з «Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [12]. Дотримання біоетичних норм засвідчено експертним висновком Комісії з питань етики НМУ імені О.О. Богомольця (протоколи № 99 від 28 грудня 2016 р.; № 119 від 22 лютого 2019 р.).

Тваринам моделювали ЦД1 шляхом введення стрептозотоцину (STZ) (Sigma, США) у дозі 50 мг/кг у цитратному буферному розчині (рН 4,5)

одноразово інтраперитоніально відповідно до методичних рекомендацій [13]. В експеримент включали тварин, що мали стійку гіперглікемію із рівнем глюкози більш ніж 15 ммоль/л. Дослідні щури були розподілені на п'ять груп: ІК (інтактний контроль, група інтактних щурів, які отримували 0,9% фізіологічний розчин); КІІ (контрольна патологія, група тварин зі стрептозотоциновим ЦД1, які отримували 0,9% фізіологічний розчин); НАцц (група щурів з індукованим ЦД1, які отримували N-ацетилцистеїн у дозі 1500 мг/кг); Мел (група щурів з індукованим ЦД1, які отримували мелатонін у дозі 10 мг/кг); НАцц+Мел (група щурів з індукованим ЦД1, які отримували N-ацетилцистеїн у дозі 1500 мг/кг та мелатонін у дозі 10 мг/кг). Лікарські засоби вводили внутрішньошлунково протягом 5 тижнів, починаючи з 15-ї доби після відтворення контрольної патології.

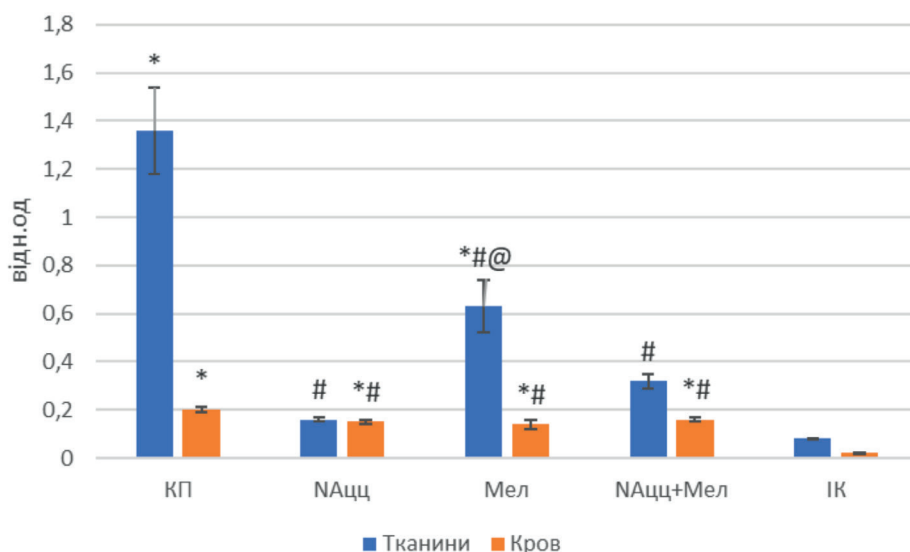
Евтаназію здійснювали декапітацією під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг, внутрішньоочеревинно) з метою забору крові та головного мозку.

Рівень окисного пошкодження ДНК досліджували, визначаючи маркер 8-охоG [14] у тканині головного мозку. Для цього 200 мг тканин мозку гомогенізували та пропускали через колонку для твердофазної екстракції 8-охоG. Визначення кількісного рівня окисного пошкодження ДНК проводили методом оптичної спектрофотометрії на спектрофотометрі СФ-46 з реєстрацією поглинання при 250, 260, 280 та 293 нм. Рівень «вільного заліза» в тканині головного мозку та крові тварин визначали за допомогою електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) на комп'ютеризованому ЕПР-спектрофотометрі РЕ-1307 відповідно до методик [15,16].

Експериментальні дані оброблено методом варіаційної статистики за допомогою програм «Microsoft Office Excel 2016», «Medstat», «IBM SPSS Statistics Base version 22.0». Для з'ясування міжгрупових відмінностей у випадку нормального розподілу вибірових даних використовували *t*-критерій Ст'юдента (для попарних порівнянь) або однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA за критерієм Шеффе та Даннета. За відсутності нормального розподілу використовували *U*-критерій Манна-Вітні. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$  [17].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Через 7 тижнів після індукції ЦД1, у тканинах головного мозку щурів групи КІІ рівень сигналу ЕПР комплексів «ВЗ» реєструвався в межах  $1,36 \pm 0,18$  відн. од., тоді як тварин ІК –  $0,08 \pm 0,004$  відн. од. ( $p < 0,05$ ). Окрім цього, рівень «ВЗ», в крові щурів з експериментальним ЦД1, становив  $0,2 \pm 0,01$  відн. од., що у 8 разів більше порівняно ІК ( $0,02 \pm 0,002$  відн. од.,  $p < 0,05$ ). Встановлено, що зростання «ВЗ», з урахуванням його високого прооксидантного потенціалу, може призводити до збільшення інтенсивності генерування супероксидних радикалів та пошкодження ДНК [18]. Так, при визначенні рівня 8-охоG – окисного продукту гуаніну, маркера оксидативного пошкодження ДНК, встановлено його зростання майже в 3,4 разу в тварин групи КІІ порівняно з ІК ( $0,61 \pm 0,10$  нм/г проти  $0,18 \pm 0,06$ ,  $p < 0,05$ ).

Уведення НАцц, Мел та їх поєднання сприяло захисту клітин головного мозку щурів з експериментальним ЦД1. Зокрема, максимально наближені значення рівнів «ВЗ» до ІК спостерігали в тканинах головного мозку групи тварин, які отримували НАцц ( $0,16 \pm 0,01$  відн. од.), тоді як Мел виявив менший нормалізуючий вплив ( $0,63 \pm 0,11$  відн. од.). Водночас, при сумісному використанні Мел та НАцц спостерігали менший рівень «ВЗ» порівняно з монотерапією Мел ( $0,32 \pm 0,03$  відн. од.,  $p < 0,05$ ). Окрім цього, терапія НАцц та Мел сприяла зниженню вмісту «ВЗ» крові щурів з ЦД1, що було достовірно порівняно з групою КІІ ( $p < 0,05$ ), проте більшим від значень ІК ( $p < 0,05$ ). Так, рівень «ВЗ» у групі НАцц становив  $0,15 \pm 0,01$  відн. од., Мел –  $0,14 \pm 0,02$  відн. од., НАцц+Мел –  $0,16 \pm 0,01$  (див. рисунок1).



Вплив N-ацетилцистеїну (NAцц), мелатоніну (Мел) та їх поєднання (NAцц+Мел) на вміст «вільного заліза» в тканині головного мозку та крові щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом:

\* – достовірні відмінності порівняно з інтактним контролем,  $p < 0,05$ ; # – достовірні відмінності порівняно з групою контрольної патології,  $p < 0,05$ ; @ – достовірні відмінності порівняно з групою NAцц+Мел,  $p < 0,05$

Після фармакологічної корекції NAцц/Мел або NAцц+Мел рівень 8-охоG був значно нижчим порівняно з групою КП ( $p < 0,05$ ). У групі щурів, яким вводили NAцц, показник становив  $0,39 \pm 0,06$  нм/г, що було в 1,6 разу менше порівняно з групою КП ( $p < 0,05$ ). У групі Мел рівень 8-охоG зменшився до  $0,35 \pm 0,07$  нм/г ( $p < 0,05$ ). Найбільш співставні до ІК значення, отримані при сумісному застосуванні NAцц та Мел, що становило  $0,30 \pm 0,04$  нм/г.

Відомо, що залізо є важливим елементом для нормального функціонування клітин, адже бере участь у транспортуванні кисню, синтезі АТФ та ДНК. Водночас надлишок внутрішньоклітинного заліза може спричинити генерування реактивних форм кисню, через реакцію Фентона, що викликає перекисне окиснення ліпідів та загибель клітини [19]. Результати останніх досліджень вказують на важливу роль лабільного заліза в опосередкованій неапоптоїтичної окисної форми запрограмованої загибелі клітин, яку прийнято називати «фероптоз» [10]. Хоча фероптоз вперше був описаний у патогенезі злоякісних пухлин, з'являється дедалі більше доказів його ролі в різноманітних патологіях, зокрема енцефалопатіях [20]. Зокрема, відповідно до даних останніх досліджень, фероптоз є основним типом загибелі клітин при хворобі Альцгеймера [21]. Окрім цього, в експерименті обмеження фероптозу мало нейропротекторний ефект і нормалізувало когнітивні розлади. Основними ланками фероптозу є: залізо-індуковане окиснення ліпідів, виснаження глутатіону та інактивація пероксидази глутатіону 4 (GP×4), що призводить до порушення окисно-відновного балансу та загибелі клітини [22]. Тому важливим напрямком лікування нейродегенеративних захворювань вважається підтримання оптимального рівня заліза та пригнічення фероптозу [23].

Визначення вмісту 8-охоG в біологічних середовищах є високоінформативним для оцінки рівня окисного пошкодження ДНК [24]. Повідомляється про зростання рівня 8-охоG у тканинах головного мозку при нейродегенеративних захворюваннях [25,26]. Naoki H. та співавт. показали, що накопичення даного маркера погіршує нейрогенез, локомоторні та когнітивні функції в експерименті [27]. Тоді як Julio L. та співавт. встановили зв'язок

між 8-охоG та мітохондріальною дисфункцією [25]. В іншому дослідженні було встановлено зростання 8-охоG у крові пацієнтів з ЦД. Автори пропонують використовувати даний біомаркер для оцінки та прогнозу макрота мікросудинних ускладнень при ЦД2 [28]. В експериментальній роботі І. Sytnyk та співавт. було виявлено зростання екскреції із сечею 8-охоG в щурів зі стрептозотоциновим ЦД1, що супроводжувалося розвитком кардіоміопатії [29]. Тоді як Zuzana O. та співавт. встановили зростання 8-охоG в лімфоцитах щурів з експериментальним ЦД1 та зниження даного біомаркера при застосуванні N-метилнікотинамідів [30].

Таким чином, визначення 8-охоG є важливим для розуміння патогенезу та оцінки ефективності терапії ЦД та його ускладнень.

**Висновки.** 1. За умов експериментального ЦД1 відбувається посилення окисних процесів що супроводжується зростанням рівнів комплексів «вільного заліза» в тканинах головного мозку (в 17 разів,  $p < 0,05$ ) та крові (у 8 разів,  $p < 0,05$ ) дослідних тварин. За цих умов спостерігається окисне пошкодження ДНК, про що свідчило зростання рівня 8-охоG в 3,4 разу ( $p < 0,05$ ). 2. Уведення N-ацетилцистеїну, мелатоніну та особливо їх поєднання сприяло антиоксидантному захисту клітин головного мозку щурів з експериментальним ЦД1, знижуючи рівень «вільного заліза» та протидіючи окисному пошкодженню ДНК.

*Рекомендовано до друку комісією з біоетики*

#### ПОСИЛАННЯ

1. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;128:40–50. DOI: 10.1016/j.diabres.2017.03.024.
2. Hayden MR. Type 2 Diabetes Mellitus increases the risk of late-onset alzheimer's disease: ultrastructural remodeling of the neurovascular unit and Diabetic Gliopathy. *Brain sciences.* 2019; 9(10) DOI:10.3390/brainsci9100262.
3. Takenoshita N, Shimizu S, Kanetaka H, Sakurai H, Suzuki R, Miwa T. et al. Classification of clinically diagnosed Alzheimer's Disease associated with Diabetes based on amyloid and Tau PET results. *Journale of Alzheimers disease.* 2019;71(1):261–271. DOI: 10.3233/JAD-190620.
4. Shreyasi C, Amritpal M. Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes: a critical assessment of the shared pathological traits. *Front. Neurosci.* 2018;12:383. DOI: 10.3389/fnins.2018.00383.
5. Левин ОС, Чмагомедова АШ. Когнитивные нарушения при сахарном диабете. *Психиатрия.* 2018;1:51–9 (Levin OS, Chimagomedova ASH. *Cognitive impairment in diabetes. Psychiatry* 2018;1:51–9). [in Russian]
6. Jiayin Z, Yue W, Song H, Yanlin L, Xiuli S, Ning Z. Identification of protein kinase C isoforms involved in Type 1 Diabetic Encephalopathy in mice. *Hindawi Journal of Diabetes Research.* 2018. DOI: 10.1155/2018/8431249.
7. Ahmadpour S. CNS complications of Diabetes Mellitus type 1 (Type 1 Diabetic Encephalopathy). *Pathophysiology.* 2012. DOI:10.5772/49990.
8. Karahan F, Dede S, Ceylan E. The effect of Lycopene treatment on oxidative DNA Damage of experimental diabetic rats. *The Open Clinical Biochemistry Journal.* 2018;8:1–6.
9. Judith A. Simcox, Donald A. McClain. Iron and diabetes risk. *Cell Metab.* 2014;17(3):329–341. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.02.007.
10. Fanzani A, Poli M. Iron, oxidative damage and ferroptosis in rhabdomyosarcoma. *International journal of molecular sciences.* 2017;18(8). DOI:10.3390/ijms18081718.
11. Про захист тварин від жорстокого поводження [Електронний ресурс]: Постанова Кабінету Міністрів України від 12.02.2006 р. № 3447-IV. Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> (About the Protection of Animals from Cruelty [Electronic resource]: Resolution of the Ukraine Cabinet Ministers of dated 12.02.2006 No. № 3447-IV. Access mode: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>). [in Ukrainian].
12. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource] – Access mode <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>.
13. Стефанов ОВ. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. Київ: Авіцена, 2001. 528 с. (Stefanov OV. *Preclinical drug research: guidelines.* Kyiv: Avicenna, 2001. 528 p.). [in Ukrainian].
14. Спосіб прогнозування перебігу захворювання у хворих на рак молочної залози / Бурлака АП, Лукін СМ, Сидорик ЄП. Патент на корисну модель № 66970, Україна МПК А61В 10/02, G01N 33/52. Заявник і патентотримувач Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Е. Кавецьго НАН України. № а 201108472; заявл. 06.07.2011; опубл. 25.07.2012, Бюл. №14 (*The method for predicting the course of the disease in patients*



with breast cancer / Burlaka A. P. Lukin S. M. Sydoryk Ye. P. Utility model patent № 66970, Ukraine МПК А61В 10/02, G01N 33/52. Applicant and patent holder R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, № а 201108472; stated. 06.07.2011; published 25.07.2012, №14). [in Ukrainian].

15. Бурлака АП, Вовк АВ, Гаңусевич ІІ, Бурлака АА, Лукін СМ, Вірко С. Супероксид-та NO-залежні механізми формування метастатичного мікрооточення віддалених сайтів метастазування хворих на колоректальний рак. Онкологія. 2017;1:64–70 (Burlaka AP, Vovk AV, Hanusevych II, Burlaka AA, Lukin SM, Virko S. Superoxide- and NO-dependent mechanisms of metastatic formation microenvironment of distant sites of metastasis of patients with colorectal cancer. *Oncology*. 2017;1:64–70). [in Ukrainian].

16. Burlaka AP, Gafurov MR, Iskhakova KB, Lukin SM, Rodionov AA, Sidorik EP et al. Electron paramagnetic resonance in the experimental oncology: implementation examples of the conventional approaches. *BioNanoScience*. 2016;6(4):431–6.

17. Трухачева НВ. Медицинская статистика: учебное пособие. Ростов н/Д: Феникс, 2017. 324 с. (Trukhacheva NV. *Medical statistics: a textbook*. Rostov na Donu, 2017. 324 p.). [in Ukrainian].

18. Бурлака АП, Гаңусевич ІІ, Голотюк ВВ, Вовк АВ, Лукін СМ, Сидорик ЄП. Порухення у системі церулоплазмін-трансферин у хворих на рак прямої кишки Онкологія. 2014; 3:206–10 (Burlaka AP, Hanusevych II, Holotyiuk VV, Vovk AV, Lukin SM, Sydoryk YeP. Disorders in the system of ceruloplasmin-transferrin in patients with rectal cancer. *Oncology*. 2014;3:206–10). [in Ukrainian].

19. Nao Y, Jun-Jian Z. The emerging roles of ferroptosis in vascular cognitive impairment. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13:811 DOI:10.3389/fnins.2019.00811.

20. Yanan W, Juan S, Yafeng W, Xiaoyang W, Carsten C, Changlian Z. The Potential Role of Ferroptosis in Neonatal Brain Injury. *Frontiers in Neuroscience*. 2019. №14. DOI: 10.3389/fnins.2019.00115.

21. Cong L, Dong X, Wang Y, Deng Y, Bo Li, Dai R. On the role of synthesized hydroxylated chalcones as dual functional amyloid- $\beta$  aggregation and ferroptosis inhibitors for potential treatment of Alzheimer's disease. *European journal of medical chemistry*. 2019;15:11–21.

22. Nao Y, Jun-Jian Z. The emerging roles of ferroptosis in vascular cognitive impairment. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13:811. DOI:10.3389/fnins.2019.00811.

23. Southon A, Szostak K, Acevedo K. CuII (atsm) inhibits ferroptosis: implications for treatment of neurodegenerative disease. *British journal of pharmacology*. 2019. doi: 10.1111/bph.14881.

24. Hao W, Qi T, Pan L, Wang R, Zhu B, Aguilera-Aguirre L. Effects of the stimuli-dependent enrichment of 8-oxoguanine DNA glycosylase1 on chromatinized DNA. *Redox biology*. 2018;43-53. DOI: 10.1016/j.redox.2018.06.002.

25. Leon J, Sakumi K, Castillo , Sheng Z1, Oka S, Nakabeppu Y. 8-Oxoguanine accumulation in mitochondrial DNA causes mitochondrial dysfunction and impairs neurogenesis in cultured adult mouse cortical neurons under oxidative conditions. *Scientific Reports*. 2013. DOI: 10.1038/srep22086.

26. Ehsan A, Mohammad E, Hossein T, Seyed H. Effect of high intensity interval training on 8-oxoguanine DNAGlycosylase and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine contents in the brain and liver of rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* . 2016;6(10):170–3.

27. Haruyama N, Sakumi K, Katogi A, Tsuchimoto D, De Luca G, Bignami M et al. 8-Oxoguanine accumulation in aged female brain impairs neurogenesis in the dentate gyrus and major island of Calleja, causing sexually dimorphic phenotypes. *Progress in neurobiology*. 2019. DOI:org/10.1016/j.pneurobio.2019.04.002.

28. Cheng Guo, Peili Ding, Cong Xie, Chenyang Ye, Minfeng Ye, Chi Pan. Potential application of the oxidative nucleic acid damage biomarkers in detection of diseases. *Oncotarget*. 2017;8:67–77. DOI: 10.18632/oncotarget.20801.

29. Sytnyk I, Burlaka A, Vovk A, Khaitovych M. Study of superoxide- and NO-dependet protective mechanisms of N-acetylcysteine and Losartan in rat's aorta and liver under streptozotocin – induced type 1 diabetes mellitus. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017;6:25–31.

30. Zuzana O, Uličná O, Liptáková A, Žitňanová I, Muchová J, Cezary W et al. *Redox Report*. 2012; 17(1): 1-7. DOI:10.1179/1351000211Y.0000000016.

RESEARCH ARTICLE

**Protector properties of N-acetylcysteine, melatonin and their compatible use for oxidative damage of rat brain cells with experimental diabetes mellitus type 1**

O.A. TEMIROVA<sup>1</sup>, M.V. KHAITOVYCH<sup>1</sup>, A.P. BURLAKA<sup>2</sup>, A.V. VOVK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*

<sup>2</sup>*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

*E-mail:lfitsner@gmail.com*

Diabetes mellitus (DM) is the most widespread endocrinological disease which associated with increasing risk of Alzheimer's disease. Diabetic encephalopathy is one of the most common and serious complications of DM. Molecular mechanisms of diabetic encephalopathy are investigated. An important element in the development of DM1 encephalopathy is the activation of oxidative stress. And determination the levels of "free iron" and 8-oxoguanine are important for evaluation of the effectiveness of diabetic encephalopathy therapy.

**Purpose of the study.** To study the effect of N-acetylcysteine, melatonin and their compatible use on the state of oxidative damage of rat brain cells with experimental DM1.

**Materials and research methods.** Experiments were carried out on male Wistar rats. DM1 was induced by administration of streptozotocin (STZ). Rats with induced DM1 was receiving N-acetylcysteine (NAC, 1500 mg/kg), melatonin (Mel, 10 mg/kg) and a combination during 5 weeks, starting at 15 days after control pathology was reproduced. Euthanasia was implemented by decapitation under thiopental anesthesia (40 mg/kg, intraperitoneally) to collect blood and brain of rats.

Molecular marker of oxidatively damaged DNA in brain – 8-oxoguanine (8-oxoG) was determined by spectrophotometrically. Levels of "free iron" were determined by electron paramagnetic resonance (EPR) on a computerized EPR-spectrophotometer PE-1307.

**Results and its discussion.** During 7-week experiment, the levels of "free iron" in brain tissue and blood in group of animals with DM1 were significantly higher than corresponding values of control group (by 17-times and by 8-times  $p < 0,05$ ). Under these conditions, the marker of oxidatively damaged DNA, 8-oxoG, significantly raised in brain of diabetic rats by 3.4 times more than in control group ( $0.61 \pm 0.10$  nm/g vs  $0.18 \pm 0.06$  nm/g,  $p < 0,05$ ).

The induction of NAC, Mel, and especially their combination, was accompanied with decrease in "free iron" complexes in brain tissues (by 2.1-8.5-times) and blood (by 1.2-1.4-times) of rats with experimental DM1.

NAC significantly reduced the 8-oxoG level by 1.6 times less than in DM1 group ( $p < 0,05$ ). Exposure to Mel significantly reduced the 8-oxoG level by 1.7 times less than in DM1 group ( $p < 0,05$ ). While treatment with combination of NAC and Mel showed significant 2.0-fold decrease of 8-oxoG level compared to DM1 group.

**Conclusions.** Induction of DM1 contributes to the intensification of oxidation processes, which is accompanied by an increasing in the levels of "free iron" complexes in the tissues of the brain and blood of experimental animals. Under these conditions, oxidative damage to DNA was observed, as evidenced by increasing in the level of 8-oxoG ( $p < 0.05$ ). The induction of N-acetylcysteine, melatonin, and especially their combination, contributed to the antioxidant protection of rat brain cells with experimental DM1, reducing the level of "free iron" and counteracting oxidative DNA damage.

**Key words:** type 1 diabetes mellitus, encephalopathy, N-acetylcysteine, melatonin, 8-oxoguanine, "free iron".