

УДК 616.89-008.441.44-078.088.7

МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Глинкина Т. В.¹, Костюк С. А.¹, Давидовский С. В.¹, Ибрагимова Ж. А.²,
Руденкова Т. В.¹, Полуян О. С.¹, Костюк Д. Д.³, Марчук С. И.²

¹ Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
г. Минск, Республика Беларусь;

² Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;

³ Институт психологии Вроцлавского государственного университета,
г. Вроцлав, Польша

Реферат. В настоящее время значительное внимание уделяется изучению роли генетических факторов в формировании суицидального поведения. В данной статье представлены результаты исследования экспрессии генов *SAT 1*, *SKA 2* и *BDNF* в слюне лиц, предпринявших попытку суицида. В качестве биологического материала использовали слюну 20 лиц, предпринявших попытку суицида (ЛППС); 5 лиц, совершивших парасуицид (ЛСП) и 20 лиц вошли в группы сравнения (ГС) — лица перенесшие психосоциальный стресс и ранее суицидальных попыток не совершавшие. Чтобы оценить возможность анализа экспрессии генов *SAT 1*, *SKA 2* и *BDNF* в слюне, определяли значения порогового цикла флуоресценции (Ct) при проведении ПЦР в режиме реального времени, используя образцы кДНК, полученные после обратной транскрипции РНК, вносимой в реакцию обратной транскрипции в наибольшем количестве. Достоверное различие ($p < 0,05$, критерий Манна – Уитни) наблюдалось в значении относительной экспрессии гена *SAT 1* между ГС и группой ЛППС. Для генов *SKA 2* и *BDNF* значения Ct составили более 34,3, что свидетельствовало о низком уровне выявляемой экспрессии генов *SKA 2* и *BDNF* в слюне.

Ключевые слова: суицид, парасуицид, экспрессия генов, слюна, *SAT 1*.

Введение. В настоящее время значительное внимание уделяется роли генетических факторов в исследовании суицидального поведения. Данные генетической эпидемиологии, полногеномный поиск ассоциаций указывают на наличие генетических предикторов суицидального поведения [1]. Среди них выделяют такой фактор, как экспрессия генов, ассоциированных с суицидальным поведением. Именно экспрессия генов характеризует ответ генома на воздействие окружающей среды и влияет на формирование фенотипических признаков, которые могут обуславливать формирование суицидального поведения [2]. В свою очередь трудности в идентификации экспрессии генов как надежного предиктора связаны с индивидуальными особенностями генетических и регуляторных сетей, вследствие чего биологическая значимость предиктора может стать неочевидной. Для проведения исследования в данном направлении выбраны 3 гена, ответственных за синтез белков, ассоциированных с суицидаль-

ным поведением: *SAT 1* (spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1), *SKA 2* (spindle and kinetochore associated complex subunit 2) и *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor). Ранее нами показано, что экспрессия данных генов обнаруживается в крови и слюне, при этом особый интерес представляет возможность исследования экспрессии генов в слюне, поскольку ее получение является неинвазивным [3].

Цель работы — изучение экспрессии генов *SAT 1*, *SKA 2* и *BDNF* в слюне лиц, предпринявших попытку суицида.

Материалы и методы. В качестве биологического материала для оценки экспрессии генов использовали слюну 20 лиц, предпринявших попытку суицида (ЛППС) в возрасте от 25 до 71 года, 15 мужчин и 5 женщин; 5 лиц, совершивших парасуицид (ЛСП) в возрасте от 23 до 59 лет, 3 мужчин и 2 женщины и 20 лиц с расстройствами адаптации в возрасте от 23 до 66 лет, 11 мужчин и 9 женщин, которые составили группу сравнения (ГС).

Для выделения РНК использовали свежие образцы слюны в объеме 500 мкл, а также образцы, замороженные до проведения исследования при -80°C , исключали те образцы слюны, которые претерпели заморозку и оттаивание, так как это приводило к значительной потере РНК. Выделяли РНК сорбцией на колонках (PureLink RNA Micro Kit, Invitrogen, США). Связанная с фильтрующими элементами колонок РНК очищалась и подвергалась действию ДНКазы (Invitrogen, США) для элиминирования контаминирующей ДНК. Этапу прохождения раствора, содержащего нуклеиновые кислоты, через колонку предшествовал лизис клеток слюны. Для лизиса клеток применяли реагент TRIzol (Invitrogen, США) и экстрагировали РНК в присутствии хлороформа (АО «База № 1 Химреактивов», РФ), что является известным методическим подходом для получения препарата РНК перед его очисткой. Количество и качество выделенной РНК оценивали путем измерения оптической плотности растворов РНК на длинах волн 260 нм и 280 нм с по-

мощью спектрофотометра NanoDrop™ Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, США), рассчитывали отношение абсорбций 260 нм/280 нм.

При выявлении уровней экспрессии генов в образцах слюны пациентов проводили молекулярно-генетический анализ методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ ПЦР-РВ) для определения относительного числа копий специфических участков кДНК каждого из исследуемых генов — *SAT 1*, *SKA 2* и *BDNF*. Для этого после выделения РНК проводили реакцию обратной транскрипции (ОТ) с использованием набора SuperScript III обратная транскриптаза, дНТФ и Random Hexamers праймеров (Invitrogen, США). Полученную в результате обратной транскрипции кДНК использовали для постановки ПЦР-РВ с применением набора «Готовая смесь для ПЦР-РВ» (Праймтех, Беларусь), праймеров и TaqMan проб к исследуемым генам *SAT 1*, *SKA 2*, *BDNF*, а также к референсным генам (house-keeping генам) *GAPDH* и *HGUS*:

SAT 1 5'-CACCCCTTTTACCACTGCCT-3' (прямой праймер),
SAT 1 5'-TGCCAATCCACGGGACATAG-3' (обратный праймер),
SAT 1 5'-AGCACTGGACTCCGCAAGGACACAGCA-3'-(проба);
SKA 2 5'-ACAGGCTGGAATATGAAATCAAGAC-3' (прямой праймер),
SKA 2 5'-ATTGCTCTGCCGCAGTTTTTC-3' (обратный праймер),
SKA 2 5'-TGTATGCCCGCATTAACCAGTTGCTGT-3' (проба);
BDNF 5'-GACTTCGGGAAGGTGTCTGG-3' (прямой праймер),
BDNF 5'-TGAAATGGGCTGAATGGGCT-3' (обратный праймер),
BDNF 5'-ACCCTCTCCATGAAGAGACAGGATGGGCA-3' (проба);
GAPDH 5'-GTGAACCATGAGAAGTATGACAAC-3' (прямой праймер),
GAPDH 5'-CATGAGTCCTTCCACGATACC-3' (обратный праймер),
GAPDH 5'-CCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCCTG-3' (проба);
HGUS 5'-CTCATTTGGAATTTGCCGATT-3' (прямой праймер),
HGUS 5'-CCGAGTGAAGATCCCCTTTTA-3' (обратный праймер),
HGUS 5'-TGAACAGTCACCGACGAGAGTGCTGG-3' (проба).

Программа амплификации: 1 цикл 95°C — 15 мин, 45 циклов 95°C — 15 с, 60°C — 60 с. Детекцию проводили по отдельным каналам: FAM/Green — для целевых генов; JOE/Yellow — для референсных генов *GAPDH* и *HGUS*.

Результаты и их обсуждение. Из образцов слюны (цельная, 500 мкл) 45 лиц групп ЛППС, ЛСП и ГС выделена РНК со следующими характеристиками: концентрация 12,9 (9,6/14,7) нг/мкл, отношение абсорбций 260 нм/280 нм 1,8–2,2, результаты экспрессии референсных генов *GAPDH* и *HGUS* положительные (рисунок 1).

Чтобы оценить возможность анализа экспрессии генов *SAT 1*; *SKA 2* и *BDNF* в слюне,

определяли значения порогового цикла флуоресценции (Ct) по каналу детекции FAM/Green — для целевых генов при наибольшем количестве РНК, вносимом в реакцию ОТ. Для гена *SAT 1* значения находились в диапазоне от 22,2 до 31,8, тогда как для генов *SKA 2* и *BDNF* значения Ct составили более 34,3, что свидетельствовало о низком уровне выявляемой экспрессии данных генов в слюне, поэтому гены *SKA 2* и *BDNF* были исключены из дальнейшего анализа экспрессии генов, контролирующих синтез белков, ассоциированных с суицидальным поведением, в слюне.

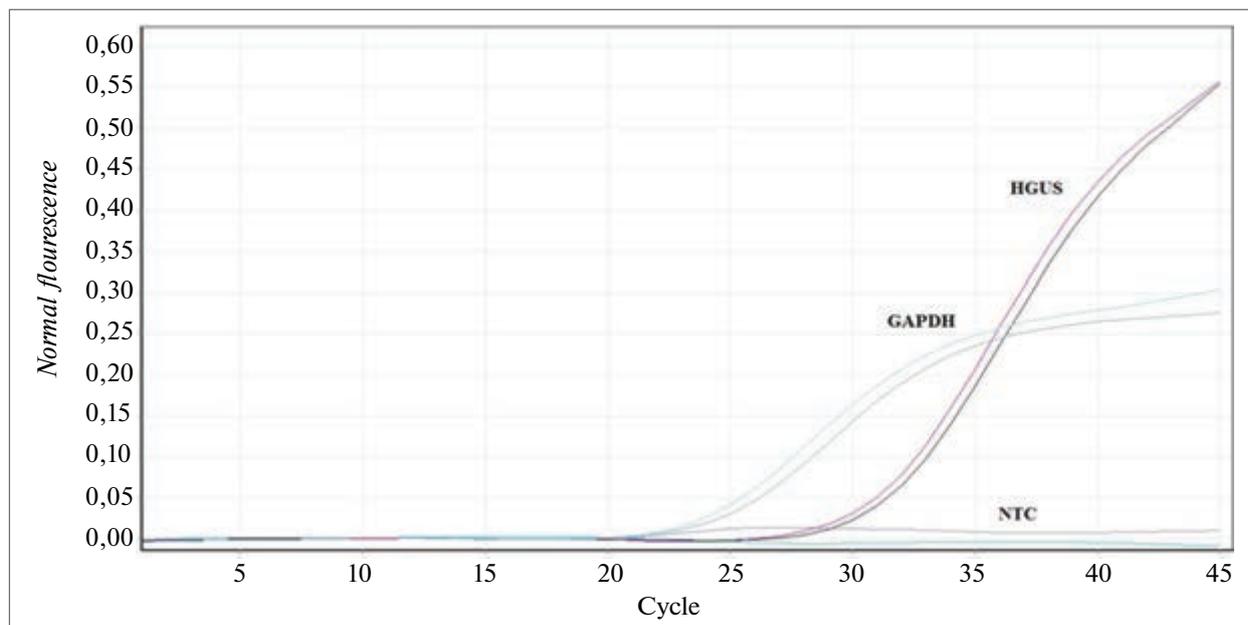


Рисунок 1 — Кривые флюоресценции, характеризующие амплификацию кДНК референсных генов *GAPDH* и *HGUS* человека

Ассоциацию *SAT 1* (spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1) с психическими расстройствами анализируют в ряде публикаций [4, 5], при этом предполагают, что уровень экспрессии гена *SAT 1* является характерным биомаркером суицидального поведения [6]. Однако отсутствуют литературные данные об оценке экспрессии гена *SAT 1* в слюне при изучении ассоциации с суицидальным поведением.

Концентрация выделенной из слюны РНК составила 12,9 (9,6/14,7) нг/мкл. В ходе иссле-

дования определяли наиболее эффективные условия ОТ РНК и амплификации синтезированной кДНК. В качестве характеристик амплификации кДНК оценивали значения *Ct* и воспроизводимость амплификации от образца к образцу слюны ($n = 10$).

Согласно таблице 1 наилучшая воспроизводимость амплификации достигалась при использовании на этапе ОТ Random Hexamers праймеров.

Таблица 1 — Характеристики амплификации кДНК *SAT 1*, *GAPDH* и *HGUS* при различных вариантах праймирования синтеза кДНК

Условие анализа	<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>	Воспроизводимость амплификации кДНК		
	Ct, Me (min/max)			<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>
Обратная транскрипция (ОТ)						
Oligo(dT) ₂₀	25,5 (25,1/26,7)	26,6 (26,2/26,8)	31,4 (30,8/31,6)	89%	93 %	85 %
Random Hexamers	24,4 (23,8/24,9)*	25,5 (25,2/26,0)*	30,2 (29,8/30,5)*	100 %	100 %	98 %
Гено-спец. праймер	25,3 (24,8/26,1)	26,4 (25,8/26,9)	31,6 (31,5/32,0)	98 %	99 %	96 %

Примечание — Me — медиана.

* Уровень значимости $p < 0,05$ (критерий Манна – Уитни).

В случае применения Oligo(dT)₂₀ или геноспецифичного праймера не все РНК, выделенные из слюны, в реакции ОТ позволили получить образец, который давал бы положительный результат амплификации. Известно, что эффективность применения Oligo(dT)₂₀ зависит от сохранения polyA последователь-

ности на мРНК, отсутствия длинных 3' UTR регионов [7]. Применение геноспецифичных праймеров в реакции ОТ является наиболее чувствительным методом, однако эффективность их применения в значительной степени зависит от количества РНК в реакции ОТ [7].

Чем больше РНК вносили в реакцию ОТ, тем более эффективной была последующая реакция амплификации равных объемов, полученных кДНК (таблица 2).

Таблица 2 — Характеристики амплификации кДНК *SAT 1*, *GAPDH* и *HGUS* при различных количествах вносимой РНК в ОТ

Условие анализа	<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>	Воспроизводимость амплификации кДНК		
	Ct, Me (min/max)			<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>
Обратная транскрипция (ОТ)						
РНК на реакцию:						
менее 50 нг	28,4 (28,0/29,2)	29,4 (29,0/30,3)	32,7 (32,3/33,1)	84 %	90 %	82 %
50–100 нг	25,5 (24,9/26,2)	26,3 (25,8/26,7)	31,6 (30,8/32,2)	97 %	100 %	95 %
более 100 нг	22,5 (21,7/22,8)	23,7 (23,2/24,0)	30,6 (30,2/31,6)	99 %	100 %	100 %

Примечание — Me — медиана.

Чтобы защитить РНК от действия РНКаз в реакцию ОТ рекомендуется вносить ингибитор РНКаз, однако избыточное его количество может вызвать обратный эффект — разрушение РНК и ингибирование ОТ, в таком случае кДНК не синтезируется и детектируется отрицательный результат амплификации, воспроизводимость амплификации значительно снижается (таблица 3, добавление 40 ед ингибитора РНКаз на реакцию ОТ).

Таблица 3 — Характеристики амплификации кДНК *SAT 1*, *GAPDH* и *HGUS* при внесении ингибитора РНКаз в ОТ

Условие анализа	<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>	Воспроизводимость амплификации кДНК		
	Ct, Me (min/max)			<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>
Обратная транскрипция (ОТ)						
Ингибитор РНКаз ^а :						
отсутствует	25,4 (25,0/26,4)	26,6 (26,0/27,0)	31,6 (31,3/32,2)	89 %	98 %	100 %
10 ед./реакцию	24,6 (24,2/25,1)	25,7 (25,3/25,9)	30,4 (30,0/30,8)	97 %	100 %	98 %
20 ед./реакцию	24,3 (23,7/24,8)*	25,4 (25,1/25,9)*	30,1 (29,7/30,4)*	100 %	100 %	98 %
40 ед./реакцию	25,2 (24,6/25,7)	26,9 (26,5/27,2)	31,6 (31,5/32,3)	77 %	82 %	81 %

Примечание — ^а — ингибитор РНКаз RNaseOUT Recombinant RNase Inhibitor (Invitrogen, США).

* Уровень значимости $p < 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

Оптимальными концентрациями праймеров для применения с набором «Готовая смесь для ПЦР-РВ» стали при амплификации кДНК гена *SAT 1*: прямого — 200 мкМ и обратного — 300 мкМ, при амплификации кДНК генов *GAPDH* и *HGUS*: прямого — 300 мкМ и обратного — 300 мкМ (таблица 4).

Таблица 4 — Характеристики амплификации кДНК *SAT 1*, *GAPDH* и *HGUS* при различных концентрациях праймеров

Условие анализа	<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>	Воспроизводимость амплификации кДНК		
	Ct, Me (min/max)			<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>
Амплификация кДНК						
F/R ^б , мкМ:						
300/300	25,7 (25,3/26,9)	25,8 (25,5/26,3)*	30,5 (30,1/30,8)*	94 %	100 %	100 %
200/300	24,6 (24,0/25,1)*	26,4 (26,0/26,6)	31,6 (31,2/31,9)	100 %	100 %	97 %
300/200	25,5 (25,1/26,3)	26,2 (25,8/26,8)	31,7 (31,1/32,2)	98 %	98 %	98 %

Примечание — ^б — F — прямой праймер; R — обратный праймер; концентрация пробы в каждом случае 200 мкМ.

* Уровень значимости $p < 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

В ходе исследования отмечено, что увеличение объема образца после ОТ, вносимого в реакцию амплификации, до 4 мкл, отрицательно влияет на прохождение реакции амплификации (таблица 5). Мы предположили, что имеет место ингибирование компонентами образца после ОТ.

Анализ присутствия ингибиторов ПЦР-РВ проводили путем сравнения результатов амплификации образцов кДНК, полученных из

слюны и вносимых в реакцию амплификации в объеме 4 мкл (кДНК-4) и их 2-кратных разведений: кДНК-2, кДНК-1, кДНК-0,5 и кДНК-0,25. Оценивали вид графиков зависимости C_t ПЦР-РВ при выявлении кДНК от концентраций кДНК (усл. ед.) и значения R^2 (рисунок 2). Статистический параметр R^2 показывает, насколько хорошо зависимость C_t ПЦР-РВ от концентрации кДНК описывается выбранной моделью (в данном случае линейной).

Таблица 5 — Характеристики амплификации кДНК *SAT 1*, *GAPDH* и *HGUS* при различных количествах вносимого в амплификацию образца после ОТ

Условие анализа	<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>	Воспроизводимость амплификации кДНК		
				<i>SAT 1</i>	<i>GAPDH</i>	<i>HGUS</i>
Ct, Me (min/max)						
Амплификация кДНК						
Объем образца после ОТ, взятый на амплификацию:						
4 мкл	24,4 (23,9/24,7)	25,5 (25,0/25,7)	30,6 (30,0/31,2)	64 %	70 %	72 %
2 мкл	25,4 (25,0/25,7)	26,5 (26,0/26,8)	31,5 (31,0/31,9)	98 %	100 %	98 %
1 мкл	27,0 (26,8/27,2)	28,1 (27,4/28,3)	33,0 (32,7/33,9)	98%	100 %	100 %
0,5 мкл	28,4 (28,0/28,7)	29,5 (29,1/29,8)	34,8 (34,2/35,3)	89%	94%	97%
0,25 мкл	31,5 (31,0/31,7)	32,6 (32,0/32,8)	35,5 (35,1/36,4)	74%	95%	93%

Примечание — Me — медиана.

Титрование раствора кДНК снижает концентрацию как нуклеиновой кислоты, так и ингибиторов амплификации, поэтому C_t при амплификации кДНК меньшей концентрации относительно значения C_t при амплификации ДНК большей концентрации наступает раньше предполагаемого C_t для данного разведения до того момента, когда концентрация ингибиторов уже не будет оказывать влияния на процесс амплификации. Как следствие, в присутствии ингибиторов график зависимости C_t ПЦР-РВ от концентрации кДНК становится пологим, для него характерен меньший наклон, параметр R^2 уменьшается.

Согласно полученным результатам (на примере амплификации кДНК гена *GAPDH*, рисунок 2, а) при переходе от образца кДНК-4 к образцу кДНК-2 значения C_t для образца кДНК-2 наступают раньше предполагаемых, наклон графика $-1,875$, $R^2 0,6878$. Нами сделан вывод о влиянии на ПЦР-РВ ингибиторов при амплификации кДНК-4, при этом разбавление образцов кДНК-4 уже в 2 раза способствует установлению пропорционального изменения C_t с изменением концентрации (рисунок 2, б): R^2 повышается до 0,8044, наклон графика изменяется и принимает значение $-2,9837$. Рас-

считана эффективность реакции амплификации кДНК гена *GAPDH* по формуле $(10^{-1/\text{наклон}} - 1)$, значение составило 115 % при оптимуме (94–110 %), что допустимо для *in house* методик.

Таким образом, при проведении ОТ РНК, выделенной из слюны пациентов, в реакцию вносили 50–100 нг РНК, использовали ингибитор РНКаз в количестве 20 ед/реакцию, для последующего анализа кДНК с применением ПЦР-РВ использовали 2 мкл полученного образца на реакцию (25 мкл).

Для оценки относительной экспрессии гена *SAT 1* в слюне выбран референсный ген *GAPDH*, поскольку значения C_t *SAT 1* и *GAPDH* сопоставимы (таблицы 1–5), оценку проводили по разнице среднего значения C_t для *SAT 1* и *GAPDH*.

Получены результаты оценки экспрессии гена *SAT 1* относительно гена *GAPDH* в слюне пациентов (медиана (мин/макс)): в ГС — 0,21 ($-1,26/0,79$), группе ЛСП — 1,10 ($-1,77/0,06$) и группы ЛППС — 1,68 ($-2,86/0,72$). Достоверные отличия ($p < 0,05$, критерий Манна – Уитни) наблюдались в значениях относительной экспрессии гена *SAT 1* между ГС и группой ЛППС (рисунок 3).

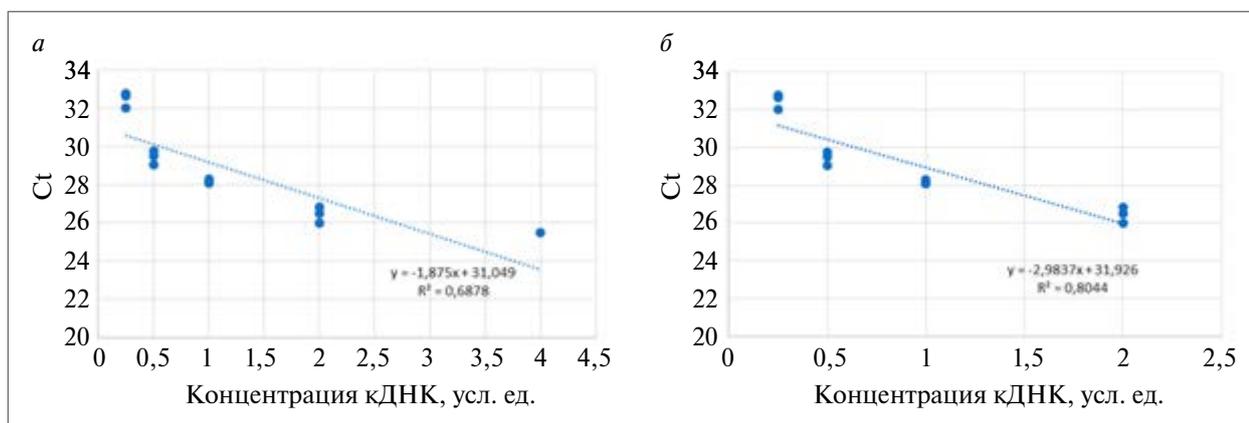


Рисунок 2 — Графики зависимости Ct ПЦР-РВ от концентрации кДНК гена *GAPDH*

Несмотря на достоверность различий в относительной экспрессии гена *SAT 1* в группе ЛППС, биологическая вариация данного признака высока (рисунок 3), поэтому требуется дополнительная валидация показателя относительная экспрессия гена *SAT 1* как потенциального биомаркера суицидального поведения.

Заключение. Применение слюны в качестве биологического материала для оценки экспрессии генов целесообразно вследствие возможности выделения РНК, пригодной для проведения ОТ ПЦР-РВ и неинвазивности процедуры получения данного биологического материала. В результате проведенного исследования впервые установлено, что относительная экспрессия гена *SAT 1* в слюне достоверно отличилась для ЛППС от значений данного параметра у ГС (ранее экспрессия гена *SAT 1* изучалась только в периферической крови лиц, совершивших парасуицид [2, 6]).

Таким образом, установлена целесообразность проведения дальнейших исследований, направленных на оценку возможности применять параметр относительной экспрессии гена *SAT 1* как генетического предиктора суицидального поведения у лиц, находящихся в состоянии суицидального кризиса.

Список цитированных источников

1. Dissecting the shared genetic architecture of suicide attempt, psychiatric disorders, and known risk factors / N. Mullins [et al.] // *Biological Psychiatry*. — 2022. — Vol. 91, № 3. — P. 313–327.
2. Understanding and predicting suicidality using a combined genomic and clinical risk assessment approach / A. B. Niculescu [et al.] // *Mol Psychiatry*. — 2015. — Vol. 20, № 11. — P. 1266–1285.
3. Создание клеточных моделей инфекции, обусловленной *Mycoplasma pneumoniae* / Т. В. Глинкина [и др.] // От истоков к достижениям XXI века : сб. науч. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 90-летию БелМАПО, Минск, 7–8 окт. 2021 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последипломн. образования; [редкол.: А. Н. Чуканов и др.]. — Минск, 2021. — С. 214–219.
4. Implication of SSAT by gene expression and genetic variation in suicide and major depression / A. Sequeira [et al.] // *Arch Gen Psychiatry*. — 2006. — Vol. 63, № 1. — P. 35–48.
5. Evidence of altered polyamine concentrations in cerebral cortex of suicide completers / G. G. Chen [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. — 2010. — Vol. 35, № 7. — P. 1477–1484.

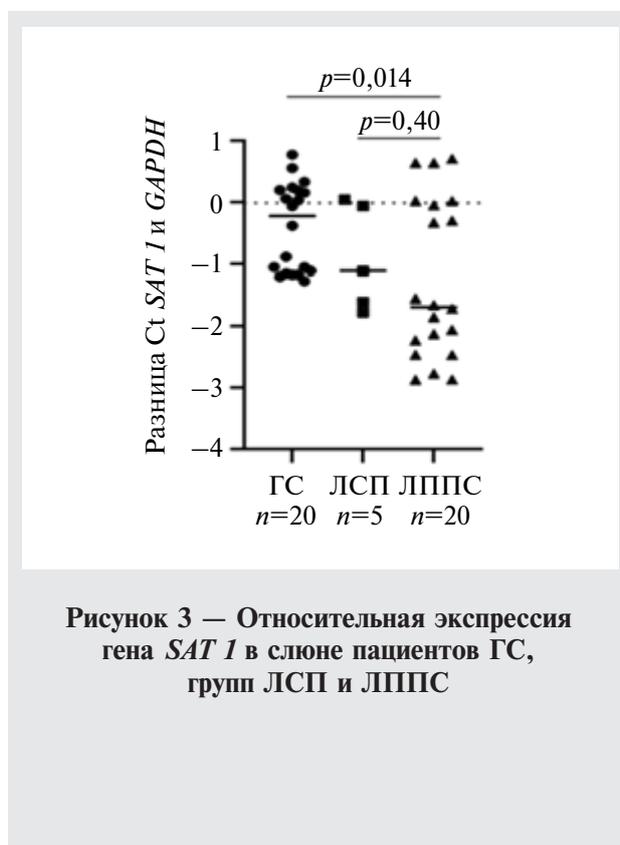


Рисунок 3 — Относительная экспрессия гена *SAT 1* в слюне пациентов ГС, групп ЛСП и ЛППС



6. Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality / H. Le-Niculescu [et al.] // *Mol Psychiatry*. — 2013. — Vol. 18, № 12. — P. 1249–1264.
7. Nolan, T. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR / T. Nolan, R. E. Rebecca, S. A. Bustin // *Nat. Protoc.* — 2006. — Vol. 1, № 3. — P. 1559–1582.

Methodological approach to identify genetic predictors of suicidal behavior

*Hlinkina T. V.¹, Kastsiuk S. A.¹, Davidouski S. V.¹, Ibragimova J. A.², Rudenkova T. V.¹,
Poluyan O. S.¹, Kastsiuk D. D.³, Marchur S. I.²*

*¹State Educational Institution “The Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education”,
Minsk, Republic of Belarus;*

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;

³Institute of Psychology of the University of Wrocław, Wrocław, Poland

Currently, high attention is paid to the role of genetic factors in the study of suicidal behavior. In the course of this study of the expression of the SAT 1, SKA 2 and BDNF genes in the saliva of individuals who attempted suicide. The saliva of 20 persons who attempted suicide (PAS) was used as biological material; 5 persons who committed parasuicide (PCP) and 20 persons were included in the comparison groups (hereinafter referred to as GS) — persons who had undergone psychosocial stress and had not previously made suicidal attempts. To assess the possibility of analyzing the expression of the SAT 1, SKA 2, and BDNF genes in saliva, the values of the fluorescence threshold cycle (Ct) were determined during real-time PCR using cDNA samples obtained after reverse transcription of the RNA introduced into the reverse transcription reaction in the largest amount. A significant difference ($p < 0.05$, Mann — Whitney test) was observed in the value of the relative expression of the SAT 1 gene between the GS and the PAS group. For the SKA 2 and BDNF genes, the Ct values were more than 34.3, indicating a low level of detectable expression of the SKA 2 and BDNF genes in saliva.

Keywords: suicide, parasuicide, gene expression analysis, saliva, *SAT 1*.