



Генетические факторы развития тромбоземболии легочной артерии

Крючкова Н. М.^{1,2}, Чернова А. А.^{1,4}, Никулина С. Ю.¹, Максимов В. Н.³

В статье представлен литературный обзор, посвященный изучению взаимосвязи генетических вариаций полиморфизмов генов *FGA*, *FGB*, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2* с развитием тромбоземболии легочной артерии (ТЭЛА). Делаются выводы о том, что генетически детерминированными факторами развития ТЭЛА в большей степени являются мутации генов *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*. Имеется положительная корреляция между наличием сочетанных генетических мутаций и развитием ТЭЛА. Изучение аллельного полиморфизма генов гемостаза позволяет прогнозировать заболевания, ассоциированные с нарушениями системы гемостаза, в т.ч. и с ТЭЛА.

Ключевые слова: тромбоземболия легочной артерии, ген, мутация Лейдена, генотип, полиморфизм, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*.

Отношения и деятельность: нет.

¹ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск; ²КГБУЗ Краевая клиническая больница, Красноярск; ³Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск; ⁴ФГБУ Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России, Красноярск, Россия.

Крючкова Н. М.* — аспирант кафедры факультетской терапии, ORCID: 0000-0003-3621-0870, Чернова А. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской терапии, ORCID: 0000-0002-6968-7627, Никулина С. Ю. — д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии; руководитель науки и инноваций, ORCID: 0000-0003-2977-1792, Максимов В. Н. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-3157-7019.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): nina_curious@mail.ru

ВТЭ — венозная тромбоземболия, ТГВ — тромбоз глубоких вен, ТЭЛА — тромбоземболия легочной артерии, ФР — фактор риска.

Рукопись получена 30.07.2022

Рецензия получена 23.08.2022

Принята к публикации 29.08.2022



Для цитирования: Крючкова Н. М., Чернова А. А., Никулина С. Ю., Максимов В. Н. Генетические факторы развития тромбоземболии легочной артерии. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(10):5173. doi:10.15829/1560-4071-2022-5173. EDN DIXNVO

Genetic factors in the development of pulmonary embolism

Kryuchkova N. M.^{1,2}, Chernova A. A.^{1,4}, Nikulina S. Yu.¹, Maksimov V. N.³

The article presents a literature review on the study of the relationship of *FGA*, *FGB*, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2* gene polymorphisms with the development of pulmonary embolism (PE). We concluded that genetic factors in the development of PE are to a greater extent mutations in the *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2* genes. There is a positive correlation between the presence of combined genetic mutations and the development of PE. The study of allelic polymorphism of hemostasis genes makes it possible to predict coagulation system disorders, including PE.

Keywords: pulmonary embolism, gene, Factor V Leiden mutation, genotype, polymorphism, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*.

Relationships and Activities: none.

¹V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk; ²Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk; ³Research Institute of Internal and Preventive

Medicine — a branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk; ⁴Federal Siberian Research Clinical Center, Krasnoyarsk, Russia.

Kryuchkova N. M.* ORCID: 0000-0003-3621-0870, Chernova A. A. ORCID: 0000-0002-6968-7627, Nikulina S. Yu. ORCID: 0000-0003-2977-1792, Maksimov V. N. ORCID: 0000-0002-3157-7019.

*Corresponding author: nina_curious@mail.ru

Received: 30.07.2022 Revision Received: 23.08.2022 Accepted: 29.08.2022

For citation: Kryuchkova N. M., Chernova A. A., Nikulina S. Yu., Maksimov V. N. Genetic factors in the development of pulmonary embolism. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(10):5173. doi:10.15829/1560-4071-2022-5173. EDN DIXNVO

Проблема венозных тромбоземболических осложнений является актуальной в современной медицине. Это обусловлено не только тяжестью течения и высокой летальностью, но и наличием ряда трудностей в своевременной диагностике данного осложнения. Согласно мировой статистике, в структуре летальности от сердечно-сосудистых заболеваний венозная тромбоземболия (ВТЭ) занимает 3 место после инфаркта миокарда и инсульта.

ВТЭ представлена тромбозом глубоких вен (ТГВ) и собственно тромбоземболией легочной артерии (ТЭЛА). ТЭЛА нередко является летальным осложнением ТГВ. Около 65% пациентов с ВТЭ имеют изолированный ТГВ, в то время как у 30% пациентов развивается ТЭЛА. Практическая значимость проблемы ТЭЛА обусловлена увеличением случаев легочных эмболий при таких патологиях и состояниях, как травмы, онкологические заболевания,

Ключевые моменты

Что уже известно о предмете исследования?

- Исследование полиморфизмов генов позволяет определить предрасположенность и прогнозировать многие заболевания, в т.ч. и такое тяжелое осложнение, как тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА).

Что нового?

- В статье рассматриваются вопросы, касающиеся выявления ассоциаций генетических вариантов полиморфизмов генов (*FGA*, *FGB*, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*) с риском развития ТЭЛА. В большей степени генетически детерминированными факторами риска развития ТЭЛА можно считать точечные мутации генов *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*. Сочетание 2 и более мутантных гаплотипов чаще встречается у пациентов с ТЭЛА в сравнении с группой пациентов, у которых отсутствует в анамнезе данное осложнение. Риск развития ТЭЛА значительно возрастает, если у одного человека одновременно встречаются 3 и более мутантных аллелей в гомозиготном состоянии.

Возможный вклад в клиническую практику

- Генетический анализ полиморфизмов генов, вовлеченных в систему гемостаза, позволяет прогнозировать заболевания, ассоциированные с нарушениями в системе гемостаза, в т.ч. и с ТЭЛА, что позволит своевременно предпринять ряд профилактических мероприятий, направленных на улучшение прогноза заболевания и избегание такого тяжелого осложнения, как ТЭЛА.

хирургические вмешательства. В этиологии ТЭЛА играют роль как приобретенные факторы, так и генетические факторы. Предрасположенность к развитию ТЭЛА можно изучить с помощью оценки полиморфизмов генов системы гемостаза, которые опосредуют свои эффекты через белковый синтез. Определив генетически детерминированные факторы риска (ФР) развития ТЭЛА, можно своевременно провести профилактические мероприятия и улучшить прогноз заболевания.

Внутреннее количество научных исследований были посвящены генетической детерминированности ТЭЛА и изучению полиморфизмов генов, ассоциированных с риском развития ТЭЛА. Проанализировав данные мировой литературы, была выявлена противоречивость мнений различных авторов по поводу взаимосвязи генетических вариаций полиморфизмов генов системы гемостаза с развитием ТЭЛА,

Key messages

What is already known about the subject?

- The study of gene polymorphisms makes it possible to determine the predisposition and predict many diseases, including such a severe complication as pulmonary embolism (PE).

What might this study add?

- The article considers issues related to identifying associations of *FGA*, *FGB*, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2* gene polymorphisms with the risk of PE. To a greater extent, point mutations in the *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2* genes can be considered genetic risk factors for PE. The combination of 2 or more mutant haplotypes is more common in patients with PE than in the group of patients without prior PE. The risk of PE increases significantly if 3 or more mutant alleles in the homozygous state occur simultaneously in one person.

How might this impact on clinical practice?

- Genetic analysis of polymorphisms of genes involved in coagulation makes it possible to predict related diseases, including PE, which will make it possible timely prevention aimed at improving the disease prognosis and avoiding such a serious complication as PE.

что и явилось целью нашего исследования научных публикаций.

Цель — изучить взаимосвязь генетических вариантов полиморфизмов генов (*FGA*, *FGB*, *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*) с риском развития ТЭЛА.

Ген *FGA*, являясь геном 1 фактора (F1) свертываемости крови, располагается на длинном плече четвертой хромосомы. Данный фактор свёртывания крови отвечает за регуляцию заключительного этапа коагуляционного каскада, влияет на образование "белого" тромба. Фибриноген — растворимый предшественник фибрина, представляет собой димер, каждая субъединица которого состоит из 3 белковых цепей: альфа (*FGA*), бета (*FGB*) и гамма (*FGG*). Мутация гена *FGA* имеет ассоциацию с риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Взаимосвязь мутации гена альфа-цепи *F1* и риска развития ТЭЛА была продемонстрирована в работе [1], где было обнаружено, что генотип ID полиморфизма rs35496957 гена *FGA* в группе с ТЭЛА в 2 раза чаще встречался по сравнению с контрольной группой среди женщин.

Согласно результатам научного исследования [2], частота выявления генетических мутаций в системе гемостаза у больных, перенесших ТЭЛА, составила 95,97%. У больных с тромбоэмболией чаще выявляли

комбинацию двух и более генетических нарушений системы гемостаза. У женщин по сравнению с мужским полом чаще выявлялись сочетания полиморфизмов в генах *FGA*, *FGB*, *PAI-1*, *MTHFR*.

Ген *FGB* кодирует аминокислотную последовательность β -цепи фибриногена. Замена гуанина на аденин в гене *FGB* приводит к повышению содержания фибриногена в плазме крови. Согласно современной литературе, носители аллеля А предрасположены к развитию ишемического инсульта, а также увеличению вероятности возникновения аневризмы брюшной аорты. Стоит обратить внимание, что ряд исследователей указали на большую роль полиморфизмов генов фибриногена в процессах образования артериальных, нежели венозных тромбов [3].

Что касается наличия ассоциации полиморфизма данного гена с риском развития ТЭЛА, то было описано, что достоверных различий относительно полиморфизма rs1800790 гена *FGB* в обеих группах не было отмечено, однако генотип GG данного полиморфизма гена *FGB* среди мужчин встречался чаще в основной группе по сравнению с контролем (здоровые) [1].

Описан анализ, изучающий роль полиморфизма генов системы гемостаза в развитии венозного тромбоза и ТЭЛА у пациентов со злокачественными новообразованиями торакоабдоминальной локализации [4]. Основную группу составили 40 пациентов с перенесенным тромбозом/ТЭЛА, контрольную группу — 81 пациент без тромботических осложнений. В результате нарушение в гене *FGB* (455 G>A) rs1800790 диагностировано у 40% пациентов основной группы и у 26% контрольной группы (в гомозиготном состоянии в 2,5% и в 0% наблюдений, соответственно). Таким образом, можно считать, что мутация в гене *FGB* является генетически детерминированным ФР развития ТЭЛА.

За кодирование белка протромбина отвечает ген *F2*. При расщеплении протромбина в присутствии ферментов образуется тромбин. Полиморфизм гена *F2* (20210 G>A) rs1799963, который характеризуется заменой гуанина (G) на аденин (A) в позиции 20210 гена, приводит в случае варианта А к увеличению экспрессии гена. Повышенный синтез протромбина — ФР развития инфаркта миокарда, тромбоза, в т.ч. и ТЭЛА. Рассмотрим результаты исследований, посвященных изучению взаимосвязи ТЭЛА и вариаций *F2*.

Обследовали 65 пациентов с установленным диагнозом ТЭЛА с целью изучения частоты встречаемости полиморфизмов генов системы гемостаза и выявили, что генотип GA полиморфизма *F2* (20210 G>A) rs1799963 у пациентов с ТЭЛА значительно чаще встречался по сравнению с контрольной группой (здоровые люди). Риск развития тромбоэмболии у носителей мутантного аллеля А в 2,9 раза выше,

чем у нормальных гомозигот GG [5]. Анализ суммарного влияния других протромбогенных полиморфизмов показал, что риск развития ТЭЛА возрастает в 22,2 раза, если у одного человека одновременно встречаются 3 и более мутантных аллелей в гомозиготном состоянии.

Изучена генетическая детерминированность ТЭЛА у пациентов с ТГВ. В исследуемой группе была выявлена связь между полиморфизмом гена *F2* (20210 G>A) и носительством аллеля "ApoE E4": в 5 раз чаще встречалась данная генетическая комбинация в основной группе в сравнении с контрольной (5,1% и 1%, соответственно). Сочетание генотипов "F2 20210GA", "P2Y12 H1/H2" и аллеля "ApoE E4" было выявлено только в исследуемой группе, в контрольной группе не было отмечено (4,3% и 0%, соответственно). Из этого следует, что ФР развития ТЭЛА у пациентов с ТГВ с мутацией в гене *F2* являются наличие ApoE-опосредованных изменений сосудистой стенки, а также генетически обусловленная склонность к АДФ-зависимой гиперактивации тромбоцитов [6].

Ген *F5*, кодирующий свертывающий фактор 5, располагается в первой хромосоме. Активированный тромбином F5 является белком, который регулирует коагуляцию крови, являясь кофактором при превращении протромбина в тромбин 10 фактором (F10). Существует ряд противоречивых мнений по поводу риска развития ТЭЛА у носителей мутации гена *F5*, известной как Лейденовская мутация. Мутация Лейдена — замена гуанина на аденин в положении 1691, в результате чего в положении 506 аминокислота аргинин замещается на глутамин. В результате такой замены прокоагулянтная активность *F5* не изменяется, но он становится резистентным к разрушающему действию активированного протеина С, что существенно увеличивает риск развития неконтролируемого свертывания крови.

Так, в ранее описанном нами исследовании [5] выявили, что частота встречаемости генотипа GA полиморфизма *F5* (1691G>A) в основной и контрольной группах составила 9,2% и 1,5%, соответственно, риск развития ТЭЛА у носителей Лейденовской мутации в 6,6 раз выше по сравнению с типом GG.

В литературном обзоре описан повышенный риск развития тромботических осложнений у носителей мутации Лейдена [7].

Продемонстрировано двукратное снижение доли носителей мутации Лейдена в сравнении с контрольной группой (изолированный ТГВ) — 10,3% и 19,5%, соответственно, в группе пациентов с ТГВ, осложненным ТЭЛА [6]. Данный факт был ранее описан и другими авторами, демонстрирующими протективное влияние Лейденовской мутации на развитие ТЭЛА. Сочетанное носительство аллеля *MTHFR* 677T, а также генотипов *F1* 455GA, *F12* 46CT и *AGT*

704ТС, было отмечено в 20 раз чаще у больных с мутацией Лейдена из группы "ТГВ+ТЭЛА" в сравнении с контролем [6].

У носителей мутации Лейдена *F5* продемонстрирован повышенный примерно в 8 раз риск развития ТГВ и незначительный риск развития ТЭЛА [8].

Таким образом, мутацию гена *F5* можно считать генетически детерминированным ФР развития ТЭЛА, однако проявление данной мутации зависит также от возраста, средовых факторов и совместного наличия других генетических мутаций.

Ген *PAI* кодирует ингибитор активатора плазминогена — I типа SERPINE 1. Известно, что фибрин расщепляется под действием плазмина. Он синтезируется из плазминогена под действием активаторов плазминогена, которые бывают 2 типов — тканевой и урокиназный. Эти активаторы находятся в токе крови в комплексе с ингибиторами. Повышение активности ингибитора активатора плазминогена-1 может наблюдаться при полиморфизме гена *PAI*. Результатом мутации 5G/4G и 4G/4G является повышенный синтез ингибитора активатора плазминогена-1 и как следствие — высокий риск развития тромботических осложнений.

При обследовании 68 больных ТЭЛА обнаружили нарушение гена *PAI-1* (-675 5G>4G) rs1799889 у 88% из них, у 27 человек — в гомозиготном состоянии [9]. Полиморфизм гена *PAI-1* (-675 5G>4G) rs1799889 был выявлен в 85% случаев в исследуемой группе и в 67,9% в контрольной группе [4].

В работе, посвященной генетическим вариантам смерти от ТЭЛА, обнаружили значительные различия между исследуемой группой (умершие от ТЭЛА) и контрольной группой по наличию *MTHFR* C677T, *SERPINC1* 4G/5G и *ITGB3* T196C [10].

С другой стороны, не выявлена взаимосвязь между мутацией гена *PAI-1* и риском развития ТЭЛА [5, 7].

Ген *ITGA2* кодирует мембранный гликопротеин интегрин-2 (ITGA2). Этот белок экспрессируется на поверхностях многих клеток (тромбоциты, мегакариоциты, фибробласты) и способен образовывать комплексы с другими белками. Описано, что повышенная экспрессия рецепторов GPIa на поверхности клетки обнаружена на поверхности тромбоцитов у пациентов гомозиготных по аллелю Т, в то время как у гомозигот по аллелю С наблюдалось снижение экспрессии. Это связано с тем, что присутствие аллеля Т ассоциируется с повышением скорости адгезии

тромбоцитов, в результате чего увеличивается риск развития тромбофилии.

Так, частота гомозиготного носительства аллеля Т гена *ITGA2* (807 С>Т) rs1126643 была значительно выше у больных ТЭЛА, чем у здоровых доноров, риск развития заболевания оказался в 2,2 раза выше у мутантных гомозигот [5].

При обследовании 68 пациентов с ТЭЛА обнаружили у 55% больных мутацию гена *ITGA2* (807 С/Т) rs1126643, у 15 человек — в гомозиготном состоянии [9].

У 60% пациентов основной группы и у 19,8% контрольной группы выявили полиморфизм гена *ITGA2* (807 С>Т) rs1126643 (в гомозиготном состоянии в 22,5% и в 6,2% наблюдений, соответственно) [4].

Из этого следует, что данный полиморфизм гена *ITGA2* ассоциирован с повышенным риском ТЭЛА и является одним из генетических факторов её развития.

Заключение

Частота регистрации генетических нарушений системы гемостаза у пациентов, перенесших ТЭЛА, достаточно высока. Генетические факторы играют не последнюю роль в этиологии ТЭЛА. В большей степени генетически детерминированными ФР развития ТЭЛА можно считать точечные мутации гена *F2*, *F5*, *PAI*, *ITGA2*. Сочетание 2 и более мутантных гаплотипов чаще встречается у пациентов с ТЭЛА в сравнении с группой пациентов, у которых отсутствует в анамнезе данное осложнение. Риск развития ТЭЛА значительно возрастает, если у одного человека одновременно встречаются 3 и более мутантных аллелей в гомозиготном состоянии. Противоречивые результаты разных работ по изучению генетически детерминированных рисков развития ТЭЛА говорят о неоднозначности имеющихся данных и об необходимости изучения данного вопроса в дальнейшем. Изучение аллельных вариаций генов, вовлеченных в систему гемостаза, позволяет прогнозировать заболевания, ассоциированные с нарушениями в системе гемостаза, в т.ч. и с ТЭЛА, что позволит своевременно предпринять ряд профилактических мероприятий, направленных на улучшение прогноза заболевания.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Kryuchkova NM. Association of polymorphisms of the FGB, MMP9, FGA genes with the risk of developing pulmonary embolism (PE). In: Proceedings of the Third All-Russian scientific and educational forum with international participation "Cardiology of XXI century: the alliances and potential" Tomsk: NII kardiologii, Tomskiy NIMTS, 2022:168-71. (In Russ.) Крючкова Н.М. Ассоциация полиморфизмов генов FGB, MMP9, FGA с риском развития тромбозомболии легочной артерии (ТЭЛА). В кн: Материалы Третьего Всероссийского научно-образовательного форума с международным участием "Кардиология XXI века: альянсы и потенциал". Томск: НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, 2022:168-71. ISBN: 978-5-6045999-6-9.
- Myalenska EV, Churilov LP, Yablonsky PK. Assessment of registration frequency of main hereditary forms of thrombophilia in thromboembolism pulmonary artery according to gender of patients. Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2016;4(6):27-35. (In Russ.) Мьяленка Е.В., Чурилов Л.П., Яблонский П.К. Оценка частоты регистрации основных наследственных форм тромбофилии при тромбозомболии легочной артерии с учетом пола больных. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2016;4(6):27-35.
- Gonzalez-Conejero R, Fernandez-Cadenas I, Iñiesta JA, et al. Proyectolctus Research Group. Role of fibrinogen levels and factor XIII V34L polymorphism in

- thrombolytic therapy in stroke patients. *Stroke*. 2006;37:2288-93. doi:10.1161/01.STR.0000236636.39235.4f.
4. Korozyova AA, Gerasimov SS, Kononets PV, et al. Assessment of the role of hemostatic gene polymorphisms in the development of venous thrombosis and pulmonary embolism in the perioperative period in patients with malignant tumors of thoracoabdominal localization. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2021;9(1):55-62. (In Russ.) Королева А.А., Герасимов С.С., Кононец П.В. и др. Оценка роли полиморфизмов генов системы гемостаза в развитии венозного тромбоза и тромбозмболии легочной артерии в периоперационном периоде у пациентов со злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2021;9(1):55-62. doi:10.33029/2308-1198-2021-9-1-55-62.
 5. Subbotovskaya AI, Shilova AN, Karmadonova NA, et al. Frequency of polymorphisms genes of the hemostasis system in patients with thromboembolism of the pulmonary artery. *Thrombosis, hemostasis et rhaeologia*. 2013;3(55):70-5. (In Russ.) Субботовская А.И., Шилова А.Н., Кармадонова Н.А. и др. Частота встречаемости полиморфизмов генов системы гемостаза у больных с тромбозмболией легочной артерии. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2013;3(55):70-5.
 6. Kapustin SI, Sidorova ZhYu, Shmeleva VM, et al. Features of allelic polymorphism of some genes of the hemostasis system in patients with deep vein thrombosis complicated by pulmonary embolism. *Bulletin of Hematology*. 2017;13(4):37-42. (In Russ.) Капустин С.И., Сидорова Ж.Ю., Шмелева В.М. и др. Особенности аллельного полиморфизма некоторых генов системы гемостаза у больных с тромбозом глубоких вен, осложненным тромбозмболией легочной артерии. *Вестник гематологии*. 2017;13(4):37-42.
 7. Sanets IA, Silin AE, Yarets Yul, et al. Genetic markers of venous thromboembolism in surgical patients. *Novostikhirurgii*. 2018;26(2):155-62. (In Russ.) Санец И.А., Силин А.Е., Ярец Ю.И. и др. Генетические маркеры венозного тромбозмболизма у хирургических пациентов. *Новости хирургии*. 2018;26(2):155-62. doi:10.18484/2305-0047.2018.2.155.
 8. van Stralen KJ, Doggen CJM, Bezemer ID. Mechanisms of the factor V Leiden paradox. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(10):1872-7. doi:10.1161/ATVBAHA.108.169524.
 9. Kinyaykin MF, Naumova IV, Buyakova ED, et al. Genetic polymorphism of thrombophilia in patients with pulmonary embolism in Primorsky Krai. *Pacific Medical Journal*. 2013;4(54):79-81. (In Russ.) Киняйкин М.Ф., Наумова И.В., Буйкова Е.Д. и др. Генетический полиморфизм тромбофилии у пациентов с тромбозмболией легочной артерии в Приморском крае. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013;4(54):79-81.
 10. Brandimarti F, Alessandrini F, Pesaresi M, et al. Investigation on genetic thrombophilic factors in FFPE autopsy tissue from subjects who died from pulmonary embolism. *Int J Legal Med*. 2017;131:447-58. doi:10.1007/s00414-016-1508-z.