Streszczenie

Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna (International Diabetes Federation, IDF) wskazuje na rosnącą na świecie liczbę diabetyków. Według prognoz, w roku 2045, w grupie wiekowej 20-79 lat, liczba cukrzyków na świecie ma wynieść około 700 milionów, co stanowi wzrost o 51% w stosunku do roku 2019. Biorąc pod uwagę szacunki IDF mówiące o tym, że połowa chorych jest niezdiagnozowana, już w najbliższych latach możemy spodziewać się częstszych przewlekłych i ostrych powikłań cukrzycy, które mogą prowadzić do śmierci. Kryteria rozpoznania i terapii zaburzeń gospodarki węglowodanowej w diagnostyce klinicznej są szczegółowo sprecyzowane, m.in. za sprawą zaleceń wydawanych przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. W medycynie sądowej nie wypracowano dotąd prostego schematu postepowania w przypadku podejrzenia śmierci na skutek hiperglikemii. Ze względu na to, że tego typu zgony najczęściej nie są manifestowane zmianami mikro- i makroskopowymi, rozpoznanie hiperglikemii w oparciu o przeprowadzone oględziny zewnętrzne i wewnętrzne zwłok, jest niemożliwe. Diagnostyka laboratoryjna jest zatem nieodzowną częścią procesu ustalania przyczyn zgonu. Ze względu na specyfikę materiału biologicznego pobieranego *post mortem* i złożone procesy przemian pośmiertnych zachodzących w organizmie, zarówno wykonanie oznaczeń, jak i interpretacja wyników badań jest znacznie utrudniona w porównaniu do badań przeprowadzanych przyżyciowo.

Rozprawa doktorska stanowi cykl dwóch spójnych tematycznie publikacji naukowych. Oba artykuły są pracami oryginalnymi. Pierwszy z nich opisuje próbę wdrożenia metod umożliwiających oznaczanie glikowanej hemoglobiny (HbA1c) i glikowanej albuminy w materiale pośmiertnym techniką ultra wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol (UHPLC-QqQ-MS/MS) oraz przedstawia wyniki badań dotyczących możliwości wykorzystywania pośmiertnych oznaczeń HbA1c w diagnostyce hiperglikemii *post mortem* w opiniowaniu sądowo-lekarskim. Drugi artykuł prezentuje wyniki badań oznaczania glukozy, mleczanów, acetonu, kwasu β-hydroksymasłowego oraz 1,5-anhydroglucitolu w pośmiertnym materiale biologicznym oraz ocenę użyteczności tych markerów w tanatodiagnostyce hiperglikemii.

Celem rozprawy doktorskiej było wyznaczenie stężeń dla wybranych krótko- i długoterminowych markerów hiperglikemii (glukozy, mleczanów, acetonu, kwasu

β-hydroksymasłowego, 1,5-anhydroglucitolu, glikowanej albuminy, glikowanej hemoglobiny) w materiałach biologicznych pobranych podczas sekcji zwłok: krwi pełnej/surowicy, moczu oraz płynie z gałki ocznej, w wybranych grupach: badanej oraz kontrolnej, wykazania ewentualnych różnic między obiema grupami. W założeniu pozwala to opisać wartość diagnostyczną danych markerów i ocenić przydatność tych markerów w opiniowaniu sądowo-lekarskim dotyczącym ustalania przyczyny zgonu w przebiegu cukrzycy. Dodatkowym celem była ocena korelacji pomiędzy stężeniami tego samego markera w różnych matrycach biologicznych oraz wzajemnych korelacji pomiędzy markerami. Konkluzją jest propozycja rekomendacji najbardziej wymiernych markerów hiperglikemii możliwych do oznaczenia w diagnostyce pośmiertnej.

Badania przeprowadzono na materiale biologicznym pobranym od zmarłych. Stworzono dwie grupy: badaną - obejmującą 50 osób (8 kobiet, 42 mężczyzn) z rozpoznaną *ante mortem* cukrzycą oraz kontrolną, złożoną z 50 osób (8 kobiet, 42 mężczyzn), które umarły śmiercią gwałtowną, z negatywnymi wynikami badań toksykologicznych w kierunku obecności alkoholu etylowego (we krwi pełnej, moczu oraz płynie z gałki ocznej). Wobec tych osób nie zachodziło podejrzenie o zgon na skutek zaburzeń glikemicznych, nie zostały one również poddane resuscytacji. Średnia wieku w grupie badanej wynosiła 60 lat (odchylenie standardowe, SD = 16) i była istotnie statystycznie wyższa niż w grupie kontrolnej (śr. 42 lata, SD = 16). Obie grupy różniły się również pod względem średniego czasu, jaki upłynął od zgonu/ujawnienia zwłok do przeprowadzenia sekcji zwłok. W przypadku grupy badanej, średni czas wynosił 7 dni i był on istotnie statystycznie wyższy w porównaniu do grupy kontrolnej (5,3 dnia).

Analizie poddano wybrane markery gospodarki węglowodanowej. Glukozę i mleczany (w surowicy, moczu oraz płynie z gałki ocznej) oznaczono metodami enzymatycznymi przy pomocy analizatora biochemicznego. Aceton oraz alkohol etylowy (we krwi pełnej, moczu oraz płynie z gałki ocznej) zostały oznaczone za pomocą techniki chromatografii gazowej sprzężonej z analizą fazy nadpowierzchniowej na dwóch kolumnach z dwoma detektorami płomieniowo-jonizacyjnymi. Kwas β-hydroksymasłowy (we krwi pełnej, moczu oraz płynie z gałki ocznej) został oznaczony techniką chromatografii gazowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol, natomiast 1,5-anhydroglucitol (we krwi pełnej, surowicy, płynie z gałki ocznej) oraz glikowana hemoglobina (we krwi pełnej) zostały oznaczone przy pomocy techniki ultra wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny

kwadrupol. Próba wdrożenia metody w celu analizy stężeń glikowanej albuminy w materiale biologicznym (w surowicy, moczu oraz płynie z gałki ocznej) techniką UHPLC-QqQ-MS/MS nie powiodła się, stąd odstąpiono od oceny użyteczności tego markera w pośmiertnej diagnostyce hiperglikemii.

Analizy statystycznej uzyskanych wyników dokonano przy użyciu pakietu IBM SPSS Statistics 25. Wykonano analizę częstości (n, %), natomiast w przypadku zmiennych ilościowych średnią, odchylenie standardowe, medianę, minimum, maksimum, kwartyl dolny oraz górny. W celu sprawdzenia czy porównywane grupy są równoliczne, jak również zbadania zależności między zmiennymi nominalnymi, zastosowano test chi-kwadrat. Analiza testem t-studenta pozwoliła sprawdzić czy istnieją istotne statystycznie różnice pomiędzy dwoma niezależnymi grupami. Analiza korelacji Spearmana pozwoliła sprawdzić czy występuje istotny statystycznie związek pomiędzy badanymi zmiennymi.

Średnie stężenie glukozy w surowicy w grupie kontrolnej było istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z grupą badaną (cukrzyków), natomiast w moczu oraz płynie z gałki ocznej, średnie stężenie glukozy w grupie badanej było istotnie statystycznie wyższe. W przypadku mleczanów, w żadnym z badanych materiałów biologicznych nie udało się wykazać różnic pod względem stężenia tego markera pomiędzy grupami. Wyniki te poddają pod wątpliwość użyteczność obu markerów w tanatodiagnostyce zgonów na skutek hiperglikemii oraz potwierdzają wcześniejsze doniesienia literaturowe.

Ze względu na to, że większość wyników stężeń acetonu nie przekroczyła dolnego limitu oznaczalności metody, który wynosił 250 µmol/l, dokonano podziału wyników na trzy grupy: ≤ 250, 251-10000 oraz > 10000 µmol/l. Zgodnie z tym podziałem, dla wszystkich materiałów biologicznych (krwi pełnej, moczu, płynu z gałki ocznej) zaobserwowano występowanie różnic istotnych statystycznie pomiędzy obiema grupami. Przeprowadzone badania wykazały, że większość stężeń acetonu w obu grupach mieściła się w wartościach uznanych za fizjologiczne (nie przekraczała 250 µmol/l). W grupie badanej przypadki te stanowiły: 69% we krwi pełnej, 70% w moczu oraz 65% w płynie z gałki ocznej, z kolei w grupie kontrolnej, było to odpowiednio: 98%, 92% oraz 98%. Ponadto w grupie badanej, w 2% stężeń oznaczonych w moczu oraz w 2% stężeń w płynie z gałki ocznej, przekraczało wartość 10000 µmol/l.

Stężenia kwasu β-hydroksymasłowego w obu grupach częściej przekraczały 250 µmol/l we wszystkich badanych materiałach biologicznych, w porównaniu

do acetonu. Jak również, dla wszystkich płynów biologicznych zaobserwowano stężenia przekraczające 10000 µmol/l, częściej dotyczyło to przypadków z grupy badanej. Analogicznie do acetonu, wyniki zostały podzielone na trzy grupy. Biorąc pod uwagę ten podział, dla wszystkich trzech materiałów biologicznych wykazano różnice istotne statystycznie w zakresie stężenia kwasu β-hydroksymasłowego pomiędzy grupami. Z kolei biorąc pod uwagę wyłącznie stężenia mieszczące się w przedziale liniowości metody (251-10000 µmol/l), różnice istotne statystycznie zaobserwowano pomiędzy grupami dla średnich stężeń kwasu β-hydroksymasłowego w moczu i w płynie z gałki ocznej. Analiza wyników potwierdza użyteczność acetonu i kwasu β-hydroksymasłowego w diagnostyce hiperglikemii *post mortem.* Warto jednak zaznaczyć, że oznaczanie stężeń tych markerów może stanowić jedynie uzupełnienie tanatodiagnostyki, biorąc pod uwagę brak specyficzności wzrostu stężeń wyłącznie w przebiegu cukrzycowej kwasicy ketonowej czy zaburzeń metabolicznych w przebiegu hiperglikemii. Wzrost stężenia ciał ketonowych, do których zaliczamy m.in. aceton oraz kwas β-hydroksymasłowy, może być także obserwowany w przebiegu innych stanów patologicznych, jak alkoholowej kwasicy ketonowej, hipotermii, ketozie towarzyszącej głodówkom, kwasicy metabolicznej z wysoką luką anoniową w przebiegu zatruć np. alkoholem metylowym.

Średnie stężenie 1,5-anhydroglucitolu dla wszystkich badanych matryc biologicznych (krew pełna, surowica, płyn z gałki ocznej) było istotnie statystycznie niższe w grupie badanej. Otrzymane wyniki są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami, potwierdzając istotność oznaczeń tego markera w diagnostyce hiperglikemii *post mortem.*

Spośród długoterminowych markerów zaburzeń gospodarki węglowodanowej z powodzeniem wdrożono metodę do oznaczania hemoglobiny glikowanej. Biorąc pod uwagę średnie stężenia HbA1c w obu grupach, wykazano różnice istotne statystycznie, co może przemawiać o użyteczności tego markera w diagnostyce zaburzeń glikemicznych, jakie miały miejsce w okresie około trzech miesięcy poprzedzających zgon.

Jednym z założeń pracy była ocena możliwości wykorzystania płynu z gałki ocznej, jako alternatywnego materiału w medycynie sądowej. W grupie badanej istotne statystycznie związki pomiędzy stężeniami tego samego markera w różnych matrycach biologicznych zaobserwowano dla: glukozy (surowica/płyn z gałki ocznej, mocz/płyn z gałki ocznej), mleczanów (surowica/płyn z gałki ocznej, mocz/płyn z gałki ocznej, surowica/mocz), kwasu β-hydroksymasłowego (krew pełna/płyn z gałki ocznej, krew pełna/mocz),

1,5-anhydroglucitolu (surowica/krew pełna, surowica/płyn z gałki ocznej, krew pełna/płyn z gałki ocznej). W grupie kontrolnej związki te zaobserwowano dla: kwasu β-hydroksymasłowego (krew pełna/płyn z gałki ocznej) oraz 1,5-anhydroglucitolu (krew pełna/surowica). Ze względu na zbyt małą liczbę wyników przekraczających dolny limit oznaczalności metody dla acetonu, ocena korelacji stężeń tego markera pomiędzy poszczególnymi matrycami nie była możliwa. Spośród wymienionych korelacji, najsilniejsze związki istotne statystycznie zaobserwowano pomiędzy stężeniami 1,5-anhydroglucitolu w badanych materiałach biologicznych. Przytoczone powyżej wyniki oceny korelacji potwierdzają użyteczność płynu z gałki ocznej, jako alternatywnego materiału w diagnostyce pośmiertnej zaburzeń glikemicznych.

Kolejnym zrealizowanym celem było sprawdzenie wzajemnych korelacji pomiędzy analizowanymi markerami. W obu grupach zaobserwowano zarówno korelacje dodatnie (wraz ze wzrostem/spadkiem zmiennej obserwowany jest analogicznie wzrost/spadek drugiej zmiennej) oraz ujemne (wzrostowi wartości jednej zmiennej towarzyszy spadek wartości drugiej zmiennej). Najsilniejsza dodatnia korelacja zachodziła w grupie badanej, pomiędzy stężeniem glukozy w moczu a stężeniem hemoglobiny glikowanej ($r = 0.48$; $p < 0.01$). Natomiast najsilniejszą ujemną korelację zaobserwowano w grupie kontrolnej, pomiędzy stężeniem 1,5-anhydroglucitolu w surowicy z stężeniem kwasu β-hydroksymasłowego w moczu ($r = -0.5$; $p < 0.05$).

Reasumując: w przypadkach zgonów w przebiegu hiperglikemii najodpowiedniejszym krótkoterminowym markerem jest 1,5-anhydroglucitol. Ze względu na wykazaną wysoką korelację pomiędzy stężeniami tego markera w różnych materiałach biologicznych, jak i możliwość hemolizy próbek surowicy, wskazane jest wykonywanie oznaczeń w próbkach krwi pełnej i płynu z gałki ocznej jednocześnie. W dalszej kolejności, do retrospektywnej oceny zaburzeń glikemicznych z powodzeniem można wykorzystać oznaczenie hemoglobiny glikowanej. Uzupełnienie diagnostyki hiperglikemii *post mortem* może stanowić oznaczenie acetonu i kwasu β-hydroksymasłowego, po wykluczeniu innych przyczyn patologicznego wzrostu stężenia tych markerów.

Ze względu na złożoność procesów pośmiertnych oraz brak standaryzacji w czasie pobrania i warunkach przechowywania materiałów biologicznych pobranych podczas sekcji zwłok, interpretacja opierająca się wyłącznie na wynikach badań tanatobiochemicznych nie jest wystarczająca do określenia przyczyny zgonu o podłożu zaburzeń gospodarki

węglowodanowej. Musi ona zostać skorelowana m.in. z informacjami dotyczącymi okoliczności zgonu, przeszłości chorobowej denata, zeznaniami świadków lub członków rodziny, wynikami innych badań toksykologicznych, histopatologicznych, wynikami zewnętrznych i wewnętrznych oględzin zwłok.

Abstract

The International Diabetes Federation (IDF) points to a growing number of diabetics around the world. According to prognoses, in the year 2045 around 700 million people aged between 20 and 79 will suffer from diabetes, which constitutes a 51% increase in comparison to 2019. The IDF's estimations suggest that half of all diabetics remain undiagnosed so clinical practitioners can expect frequent chronic and acute complications of diabetes in the years to come, some of which may even lead to death. Diagnostic criteria and treatment guidelines for carbohydrate metabolism disorders are clearly defined in clinical practice, according to recommendations issued by the Polish Diabetes Association. However, no similar management standards have been established in forensic medicine in cases suspected of hyperglycemia as cause of death. Since micro- and macroscopic abnormalities are usually not observed in these fatalities, diagnosing hyperglycemia on the sole basis of external and internal corpse examination is impossible. Therefore, laboratory diagnostics plays vital role in the process of determining the cause of death. Nevertheless, due to specific properties of postmortem biological material and the complexity of processes occurring in the body after death, laboratory tests and interpretation of test results pose greater difficulties compared to medical tests carried out before death.

This doctoral dissertation is composed of two original research papers which are coherent in subject. The first article describes an attempt to implement methods allowing to determine concentration of glycated hemoglobin (HbA1c) and glycated albumin in postmortem materials by using ultra high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry (UHPLC-QqQ-MS/MS), and it presents the results of studies on possible implementation of HbA1c in postmortem diagnosing of hyperglycemia for the purpose of medicolegal opinions. The second publication presents results of studies on determining glucose, lactate, acetone, β-hydroxybutyric acid and 1,5-anhydroglucitol concertation in postmortem material and assesses its applicability in diagnostics of hyperglycemia.

The aim of this doctoral dissertation was to determine concentrations of selected short- and long-term markers of hyperglycemia (glucose, lactate, acetone, β-hydroxybutyric acid, 1,5-anhydroglucitol, glycated albumin, glycated hemoglobin) in several biological materials obtained during autopsy: whole blood/serum, urine and vitreous humor. The research was conducted in both study and control groups, in order to reveal possible differences between

the two groups. Therefore it could provide evidence for the diagnostic value of the markers mentioned above - as well as to assess their usefulness to determine the cause of death. An additional aim of this work was to examine correlations between concentrations of a given marker in various biological matrices and identify possible inter-correlations between the markers.

The conclusion of this study suggests recommendations for the most measurable markers of hyperglycemia which could be implemented in postmortem diagnostics.

The examinations were carried out on biological material obtained from cadavers. Two groups were formed: the study group, consisting of 50 subjects (8 female, 42 male) with antemortem diagnosis of diabetes, and the control group, consisting of 50 subjects (8 female, 42 male) who died a sudden death, with negative results of toxicological tests for the presence of ethyl alcohol (in whole blood, urine and vitreous humor). Therefore, individuals from the control group were not suspected of dying due to glycemic disorders, neither were they subjected to cardiopulmonary resuscitation before death. The mean age in the study group was 60 years (standard deviation, SD = 16) and it was statistically significantly higher than in the control group (mean age 42 years, SD = 16). Both groups also differed in terms of postmortem interval. For the study group, the mean interval was 7 days and it turned out to be longer than in the control group (5.3 days), which was also statistically significant.

Selected markers of carbohydrate metabolism were analyzed. Glucose and lactate (in serum, urine and vitreous humor) were determined by enzymatic methods, using a biochemical analyzer. Acetone and ethyl alcohol (in whole blood, urine and vitreous humor) were determined by gas chromatography coupled with headspace analysis performed on two columns with two flame ionization detectors. β-hydroxybutyric acid (in whole blood, urine and vitreous humor) was determined by gas chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry, while 1,5-anhydroglucitol (in whole blood, serum, vitreous humor) and glycated hemoglobin (in whole blood) were determined with the use of ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry. Unfortunately, since the attempt to implement a method for glycated albumin analysis in biological material (serum, urine and vitreous humor) by means of UHPLC-QqQ-MS/MS was not successful, we gave up evaluating the usefulness of this marker in postmortem diagnostics of hyperglycemia.

Statistical analyses of these test results were carried out with the use of IBM SPSS Statistics 25 pack. Frequency analyses were performed (n, %) and mean values, standard deviation, median, minimum and maximum values, upper and lower quartiles were calculated. Chi-squared test was applied in order to verify whether the compared groups were equivalent, as well as to examine correlations between nominal variables. Student's t-test allowed to identify statistically significant differences between the two independent groups. Spearman's rank-order correlation checked a statistically significant relationship between the examined variables.

It was statistically significant that the mean concentration of glucose in serum was higher in the control group than in the study group (diabetics), while mean glucose concentrations in urine and vitreous humor turned out to be higher in the study group. As for lactate concentrations, no differences between the two groups were observed in any of the examined biological material. These results question the usefulness of above mentioned markers in postmortem diagnostics of hyperglycemia, and confirm previous reports in the literature.

Considering the fact that the most results of acetone concentration tests did not exceed the lower limit of quantification (250 μmol/l), the results were divided into three categories: ≤ 250, 251-10,000 and > 10,000 μmol/l. According to this classification, all biological materials (whole blood, urine, vitreous humor) revealed statistically significant differences between both groups. The testes showed that the majority of acetone concentration results were within physiological range (the obtained values did not exceed 250 μmol/l). Physiological concentration for this marker in the study group constituted: 69% in whole blood, 70% in urine and 65% in vitreous humor, while in the control group: 98%, 92% and 98%, respectively. Moreover, 2% of acetone concentrations in urine and 2% of acetone concentrations in vitreous humor exceeded 10,000 μmol/l in the study group.

β-hydroxybutyric acid concentrations in both groups were more often observed to be higher than 250 μmol/l in all biological material, compared to acetone concentration. Furthermore, β-hydroxybutyric acid concentration exceeding 10,000 μmol/l was observed in all biological material but these high concentrations was more often identified in the study group. Analogically to acetone, all β-hydroxybutyric acid results were divided into three categories. According to this classification, all three biological materials demonstrated statistically significant differences between the two groups in terms of β-hydroxybutyric acid

concentration. However, when considering only the results which were within linearity range of the applied method (251-10,000 µmol/l), statistically significant differences were observed between the two groups for mean β-hydroxybutyric acid concentrations in urine and vitreous humor. Analysis of these results confirms the applicability of acetone and β-hydroxybutyric acid as a valuable markers in postmortem diagnostics of hyperglycemia. It should be emphasized that identifying concentrations of these markers may only serve as a complementation in postmortem diagnostics, since the increase of their concentrations is not specific only for diabetic ketoacidosis or hyperglycemic metabolic disorders. Elevated concentrations of ketone bodies may also be observed in the course of other pathological conditions, such as alcoholic ketoacidosis, hypothermia, ketosis induced by carbohydrate restriction or metabolic acidosis with high anion gap in the course various intoxications, e.g. methanol poisoning.

Mean concentration of 1,5-anhydroglucitol in all biological matrices (whole blood, serum, vitreous humour) was lower in the study group and this difference was also calculated as statistically significant. The obtained results were in line with previous scientific findings and confirmed the usefulness of this marker in postmortem diagnostics of hyperglycemia.

Based on long-term markers of carbohydrate metabolism disorders, a method for identifying glycated hemoglobin concentrations has been successfully implemented in medicolegal practice. The HbA1c concentrations were statistically significantly different between the two groups. It proves the applicability of this marker in diagnosing glycemic disorders in the period of approximately three months prior to death.

Another focus of this study was the applicability of vitreous humor as an alternative material in forensic medicine. In the study group, statistically significant correlations of the same marker in various biological matrices were observed for: glucose (serum/vitreous humor, urine/vitreous humor), lactate (serum/vitreous humor, urine/vitreous humor, serum/urine), β-hydroxybutyric acid (whole blood/vitreous humor, whole blood/urine), 1,5-anhydroglucitol (serum/whole blood, serum/vitreous humor, whole blood/vitreous humor). In the control group, statistically significant correlations were observed for: β-hydroxybutyric acid (whole blood/vitreous humor) and 1,5-anhydroglucitol (whole blood/serum). Due to insufficient number of results exceeding lower limit of quantification for acetone identification method, it was impossible to analyse correlations for this marker between various matrices. Among the above listed correlations, the strongest statistically significant relationships were observed

between the concentrations of 1,5-anhydroglucitol in examined biological materials. The outcomes of evaluated correlations confirm the usefulness of vitreous humor as an alternative material in postmortem diagnostics of glycemic disorders.

Another aim of the study was to check inter-correlations between the analysed markers. Both, positive (along with an increase/decrease of a given variable, analogical increase/decrease of another variable is noted) and negative (increase of one variable is accompanied by a decrease of another variable) correlations were noted. The strongest positive correlation occurred in the study group between the concentrations of glucose in urine and glycated hemoglobin ($r = 0.48$; $P < 0.01$), whereas the strongest negative correlation was observed in the control group between the concentrations of 1,5-anhydroglucitol in serum and β-hydroxybutyric acid in urine ($r = -0.5$; $P < 0.05$).

To summarize: when hyperglycemia is a suspected cause of death, the most accurate short-term verification marker is 1,5-anhydroglucitol. Due to a demonstrated strong correlation between the concentration of this marker in different biological materials it is advised to determine 1,5-anhydroglucitol in whole blood and vitreous humor simultaneously. What is more, glycated hemoglobin determination may be successfully applied in retrospective evaluation of glycemic disorders. Establishing acetone and β-hydroxybutyric acid concentrations may serve as a valuable additional test in postmortem diagnostics of hyperglycemia, provided that other possible causes of pathological increase of these parameters are excluded.

Considering the complexity of postmortem processes occurring in the body and the lack of standardization in collection time and storage conditions of biological material obtained during autopsy, interpretation based solely on postmortem biochemical test results is not sufficient to determine whether a death was caused by carbohydrate metabolism disorders. The cause of death must be correlated with information regarding death circumstances, medical history of the deceased, history taken from witnesses or family members, results of other toxicological and histopathological tests, as well as results of both external and internal corpse examinations.