

Markus Metsälä

Mitä uloshengitysilma voidaan selvittää?

Uloshengitysilmatestit diagnostiikassa

Uloshengitysilman kemiallinen analyysi tarjoaa kajoamattoman menetelmän sairauksien diagnosointiin. Vaikka uloshengityksestä on tunnistettu yli 1 000 erilaista haihtuvaa yhdistettä ja erilaisten sairauksien biomerkkiaineita on tutkittu aktiivisesti, kliiniseen käyttöön on tähän mennessä päätynyt vain muutamia hengitystestejä. Tunnetuimmat ovat astman diagnostiikassa hyödynnettävä typpimonoksiditesti (FeNO) ja helikobakteerin hengitystesti. Hengitysanalytiikassa voidaan hyödyntää monia erilaisia mittaussuureita, mutta hengityksestä mitattavien haihtuvien yhdisteiden pitoisuuksien suuri biologinen vaihtelu-
väli ja standardoitujen menetelmien puute rajoittavat laajaa käyttöä. Monien hengityksen biomerkki-
aineiden taustalla piilevää biokemialla ei myöskään vielä ymmärretä yksityiskohtaisesti.

Uloshengitysilma sisältää lukuisia kemiallisia yhdisteitä, joiden analysointia käytetään lääketieteellisessä diagnostiikassa ja mahdollisesti täydentämään tavanomaisia veri- ja virtsatutkimuksia. Analyysi on täysin kajoamaton, hengitysnäytteet eivät yleensä vaadi esikäsittelyä ja mittaussuureiden mukaan hengitystestit soveltuvat myös vieritestaukseen (1). Hengitysnäyte on helppo ottaa kaikilta, keskosista terminaalivaiheen potilaisiin. Vaikka suurin osa uloshengitysilman kaasusta, kuten typpi, happi ja argon, on peräisin sisäänhengityksestä, hengitysilma sisältää myös elimistöstä peräisin olevia yhdisteitä, jotka voivat liittyä normaaliin metaboliaan tai sairauksiin. Hengitysilma koostuu kaasusta, aerosoleista ja hiukkasista. Käsittelen tässä katsauksessa lähinnä kaasumaisten yhdisteiden analyysia, mutta uloshengitettyjen aerosolien sisältämiä yhdisteitä voidaan myös analysoida. Tällöin puhutaan niin sanotusta uloshengityskondensaatista (exhaled breath condensate, EBC) ja näyte tuotetaan keräämällä uloshengitetty vesipisarat, usein jollekin kylmälle pinnalle (2). EBC-näyte sisältää haihtumattomia molekyylejä ja jopa makromolekyylejä kuten proteiineja. Suurin osa tutkimuksesta keskittyy kuitenkin uloshengitysilmassa olevien kaasujen analysointiin, ja

mittaussuureiden ovatkin kehittyneempiä tällä saralla.

Uloshengityksessä esiintyviä yhdisteitä

Hengitysilman diagnostiikalla on pitkä historia. Jo Hippokrates (noin 460–370 eaa.) huomasi hengityksen pahan hajun mahdollisesti liittyvän sairauksiin (feto oris tai feto hepaticus) (3). Varsinaista uloshengityksen kemiallista analyysia on kuitenkin tehty vasta 1970-luvulta lähtien. Linus Pauling, hengitysanalyysin pioneeri ja tupla-Nobel-palkittu (kemian ja rauhan), määrittä tuolloin ryhmineen noin 250 haihtuvaa yhdistettä hengitysnäytteestä (4). Nykyään uloshengityksestä on tunnistettu yli tuhat erilaista kemiallista yhdistettä (5). Hiilidioksidi on elimistöstä vapautuvista yhdisteistä pitoisuudeltaan selkeästi suurin (noin 5 %). Mittauksissa käytetään yksiköitä kuten ppm (part-per-million, $1/10^6$), ppb (part-per-billion, $1/10^9$) tai ppt (part-per-trillion, $1/10^{12}$).

Hiilidioksidin jälkeen uloshengityksen pitoisuudet ovat suurimpia sellaisilla yhdisteillä kuten metaani (CH_4), vety (H_2), aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), metanoli (CH_3OH), ammoniakki (NH_3) ja isopreeni (C_5H_8). Näiden yhdisteiden

den pitoisuudet vaihtelevat välillä 100 ppb–10 ppm. Uloshengityksen pitoisuudet riippuvat yhdisteiden pitoisuuksista elimistössä mutta myös yhdisteiden haihtuvuudesta ja vesi- ja rasvaliukoisuudesta. Yleensä suuremmat molekyylit haihtuvat pieniä huonommin, joten uloshengityksessä esiintyy pääasiassa pienehköjä metaboliatuotteita. Näiden metaboliatuotteiden tarkat biokemialliset mekanismit ovat usein vielä hämärän peitossa, mikä muodostaa yhden alan keskeisistä haasteista.

Yhdisteiden yhteys sairauksiin

Metaani. Joillakin ihmisillä metaanin uloshengityspitoisuus ylittää sisäänhengityksen pitoisuuden yli 1 ppm, ja heidät luokitellaan metaanin tuottajiksi (6,7). Metaanin uskotaan syntyvän pääosin ruuansulatuskanavan anaerobisten mikrobien vaikutuksesta, ja sen pitoisuutta uloshengityksessä on tutkittu ohutsuolen bakteerien liikakasvun (SIBO) diagnostiikassa (6). Myös vety muodostuu uloshengitykseen ruuansulatuskanavassa, ja sitä on käytetty biomerkkiaineena laktoosi-intoleranssin toteamisessa (8).

Asetoni on toinen merkittävä yhdiste uloshengityksessä, ja sen pitoisuus vaihtelee välillä 100 ppb–5 ppm. Asetonin hedelmäinen haju diabeetikoiden hengityksessä havaittiin jo 1800-luvulla (9). Asetonia muodostuu elimistössä pääasiassa ketoaineisiin kuuluvan asetoasetatnin dekarboksylaation kautta, ja sitä on tutkittu erityisesti mahdollisena diabeteksen biomerkkiaineena (10). Asetonin uloshengityspitoisuuteen vaikuttavat kuitenkin monet tekijät, kuten ikä, etninen tausta ja ruokavalio, joka aiheuttaa suurta biologista variaatiota koehenkilöiden välillä (9). Tämän vuoksi asetonin käyttö yksittäisenä diabeteksen biomerkkiaineena ei ole mahdollista. Asetonipitoisuus korreloi kuitenkin elimistön rasvan määrän kanssa, joten sitä voidaan käyttää painonpudotuksen seurannassa (11).

Ammoniakkin pitoisuus uloshengityksessä vaihtelee terveillä koehenkilöillä välillä 400 ppb–2 ppm, kun näyte otetaan suun kautta. Nenän kautta otetussa uloshengitysnäytteessä pitoisuus on kuitenkin huomattavasti

pienempi (10–150 ppb) (12). Suurin osa suun kautta uloshengitetystä ammoniakista on peräisin suun entsyymitoiminnan hajottamasta ureasta (13).

Ammoniakkia muodostuu elimistössä aminohappojen metabolian yhteydessä, ja maksa ylläpitää sen homeostaasia ureakierron kautta. Uloshengityksen ammoniakkimittausta on tutkittu monen sairauden yhteydessä, muun muassa munuaisten vajaatoimintaan ja ruuansulatukseen liittyen (14). Koska syljen ureapitoisuus on yhteydessä veren ureapitoisuuteen, uloshengitetyn ammoniakkin avulla voidaan seurata esimerkiksi veren ureapitoisuuden pienenemistä dialyysihoidon aikana (15).

Isopreeni on hyvin mielenkiintoinen esimerkki yhdisteestä, jonka pitoisuus uloshengityksessä on suhteellisen suuri. Sen analysoiminen on tästä syystä melko helppoa, ja isopreeniä on tutkittu biomerkkiaineena muun muassa munuaisten kroonisen vajaatoiminnan, kystisen fibroosin ja keuhkosityövän yhteydessä (16). Keskimääräinen isopreenipitoisuus uloshengityksessä on noin 100 ppb, mutta koehenkilöillä tehdyissä mittauksissa havaitaan melko suurta hetkellistä lisääntymistä erityisesti fyysisen rasituksen yhteydessä (jopa 500 ppb) (17). Isopreenin lähteeksi elimistössä epäiltiin pitkään kolesterolin biosynteesiä maksassa, mutta sittemmin on osoitettu, että isopreeni muodostuu pääasiassa lihaksissa tapahtuvan kolesterolin lipolyyttisen metabolian yhteydessä (18,19). Koska fyysinen aktiviteetti vaikuttaa isopreenin pitoisuuteen elimistössä, se täytyy ottaa huomioon hengitysnäytteiden näytteenotossa. Isopreeni on esimerkki hengityksen biomerkkiaineesta, jonka biokemiallista alkuperää on tutkittu perusteellisesti, mikä erottaa sen suurimmasta osasta muista hengityksestä löytyvistä yhdisteistä.

Analyysimenetelmät

Hengitysanalyysissa voidaan käyttää hyväksi monia erilaisia mittaustekniikoita. Tämä on metodologian etu mutta myös merkittävä haaste pyrittäessä siirtämään hengitystestejä kliiniseen käyttöön. Toisaalta on hyödyllistä, että hengitysnäytteitä voidaan analysoida sekä

kalliilla ja tarkoilla laboratorioanalyysimenetelmillä että myös pienillä ja halvoilla sensoriteknikoilla. Mutta koska eri mittausten menetelmät eivät tuota täysin vertailukelpoista mittaustietoa muun muassa erilaisten näytteenottomenetelmien vuoksi, eri teknologioiden mittaustulosten vertailussa on ongelmia.

Massaspektrometria. Yleisin analyysimenetelmä hengitysanalytiikassa on kaasukromatografia-massaspektrometria (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) (20). GC-MS on hyvin vakiintunut tekniikka kemiallisessa analytiikassa ja tuottaa erittäin luotettavia tuloksia, mutta näytteiden analysointi on suhteellisen hidasta eivätkä laitteet yleisesti sovellu vieritestaukseen. Myös muita massaspektrometriaan perustuvia mittausten menetelmiä sovelletaan laajasti hengitysanalytiikassa, ja jotkut näistä mahdollistavat myös reaaliaikaisen analyysin. Kaikille menetelmille on kuitenkin yhteistä laitteiden suhteellisen suuri koko ja kallis hinta. Ne soveltuvat mainiosti tutkimus- ja laboratoriokäyttöön mutta eivät yleensä mahdollista pienten ja halpojen analyysilaitteiden tuottamista lääkärin vastaanotolle tai potilaan kotikäyttöön.

Optinen spektroskopia on toinen mittausten metodologia, joka soveltuu hyvin kaasumaisten näytteiden analytiikkaan. Menetelmässä mitataan kaasumolekyylien aiheuttamaa sähkömagneettisen säteilyn absorptiota tai emissiota. Optisessa kaasuanalytiikassa hyödynnetään useimmiten infrapunasäteilyn absorptiota, jolla saadaan aikaan herkkä ja kemiallisesti selektiivinen analyysituloks (21). Optiseen spektroskopiaan perustuvat analyysilaitteet ovat yleisesti ottaen jonkin verran halvempia kuin massaspektrometrit, ja niitä voidaan tuottaa melko pienessä kokoluokassa. Kliinisessä käytössä olevista hengitystesteistä esimerkiksi helikobakteerin hengitystesti voidaan toteuttaa käyttäen optista analyysilaitetta (22). Analyysissa potilaan nielemä hiilen ^{13}C -isotoopilla leimattu urea muuttuu elimistössä ^{13}C -leimatuksi hiilidioksidiksi ($^{13}\text{C}\text{O}_2$), jonka pitoisuus voidaan määrittää infrapuna-absorption kautta.

Kemiluminesenssi. Astman diagnostiikassa ja hoidon seurannassa uloshengitysilman suuri typpimonoksidipitoisuus (fractional exhaled

Ydinasiat

- ▶ Uloshengitysilma voidaan analysoida suuri määrä erilaisia kemiallisia yhdisteitä, joista osa on yhteydessä sairauksiin.
- ▶ Kliinisessä käytössä on toistaiseksi vasta muutama hengitystesti.
- ▶ Uloshengitysanalytiikassa voidaan soveltaa useita erilaisia analyysimenetelmiä, joista osa on tehokkaasti miniaturisoiduissa myös vieritestaukseen soveltuvaksi.
- ▶ Standardoitujen menetelmien puute ja rajoitettu ymmärrys hengityksen biomerkkiaineiden biokemiasta haittaavat metodologian kehittymistä.

nitric oxide, FeNO) voi viitata tulehdukseen, ja sen pitoisuutta voidaan määrittää kemiluminesenssi-ilmiön avulla (23). Kemiluminesenssissa uloshengityksen typpimonoksidi (NO) reagoi otsonin kanssa ja tuottaa typpidioksidia (NO_2), joka on kemiallisesti virittyneellä tilalla. Palatessaan perustilalle NO_2 molekyylillä emittoi valoa, jota mittaamalla voidaan analysoida typpimonoksidin pitoisuus hengitysnäytteessä. Nykyään FeNO analytiikkaan on saatavilla myös hyvin pienikokoisia, sähkökemialliseen sensoritekniikkaan perustuvia laitteita (24).

Erilaisiin sensoritekniikoihin perustuvat analyysilaitteet ovat erityisen houkuttelevia vieritestauksen kannalta. Sensorit mittaavat usein sähkönsäätävyyden muutoksia, jotka aiheutuvat analysoidun yhdisteen adsorptiosta sensorimateriaalin pinnalle. Materiaaleina käytetään muun muassa metallioksideja (MOx) ja erilaisia nanohiukkasia (25).

Sensoreiden etuna ovat niiden edullisuus ja pieni koko, mikä mahdollistaa jopa kädessä pidettävien analyysilaitteiden valmistamisen. Haittapuolena on kuitenkin sensoreiden rajallinen kemiallinen selektiivisyys. Vaikka sensori olisi optimoitu tietyn yhdisteen mittaamiseen, tulos voi silti vaihdella muiden hengityksessä olevien yhdisteiden vaikutuksesta. Usein käytetäänkin useamman sensorin ryhmiä, jotka reagoivat monenlaisiin yhdisteisiin. Ne muodostavat uloshengityksen kemiallisen sormenjäljen mut-

TAULUKKO. Viranomaishyväksynnän saaneita tai muuten jo kliinisessä käytössä olevia uloshengitystestejä (8,22,23,30–35).

Biomerkkiaine	Käyttökohde
CO ₂	Kapnografia, ventilaatio
Etanoli	Veren etanolipitoisuus
NO	Astma
H ₂	Laktoosi-intoleranssi
CO	Vastasyntyneen keltaisuus
Alkaanit	Sydänsiirteen hylkiminen
¹³ CO ₂	<i>Helicobacter pylori</i>
	Gastropareesi
	Maksan toiminta
Avoin	COVID-19

ta eivät tarjoa tarkkaa tietoa yksittäisten yhdisteiden pitoisuuksista. Tätä lähestymistapaa kutsutaan sähköiseksi nenäksi (e-Nose). Nykyään tällaiset menetelmät yhdistetään usein tekoälyyn ja koneoppimiseen, jolloin analyysointia voidaan opettaa erottamaan potilaat terveistä henkilöistä (26). Tällaiseen kemiallisesti eristämiseen analyysiin liittyy kuitenkin riskejä, koska biokemiallinen perusta diagnosoille voi jäädä epäselväksi. Sensoriryhmät vertautuvat tässä mielessä koirien herkin hajuaistin hyödyntämiseen uloshengitysanalytiikassa (27).

Ioniliikkuvuuteen perustuvat tekniikat (ion mobility spectrometry ja differential mobility spectrometry) edustavat tietynlaista välimuotoa kemiallisessa selektiivisyydessä. Ioniliikkuvuuspektrometria perustuu ionisoitujen molekyylien liikkuvuuseroihin sähkökentässä, mikä mahdollistaa kompaktien ja melko halpojen analyysilaitteiden valmistuksen. Menetelmä on herkkä, ja sen kemiallinen selektiivisyys on parempi kuin sensoritekniikoilla, mutta massaspektrometrian tai optisen spektroskopian tasolle se ei kuitenkaan selektiivisyydessä yllä. Tekniikkaa on kehitetty myös Suomessa nenän sivuontelotulehduksen diagnostiikkaan (28).

Käytössä olevat hengitystestit

Vaikka uloshengitystä on tutkittu 1970-luvulta lähtien, kliiniseen käyttöön on tähän mennessä päätenyt vielä melko vähän hengitystestejä. **TAULUKKOON** on kerätty hengityksen biomerkkiaineita ja hengitystestejä, jotka ovat saaneet

joko FDA:n tai EMA:n hyväksynnän tai ovat jo muuten päätyneet kliiniseen käyttöön (20,29).

TAULUKOSSA luetelluista uloshengitysanalyysin sovelluksista kapnografia ja veren etanolipitoisuuden määrittäminen ovat laajassa globaalissa käytössä mutta eivät ole varsinaisia diagnostisia testejä.

Uloshengityksen typpimonoksidimittaus on kliinisessä käytössä astman diagnostiikassa, ja sillä saavutetaan melko hyvä tarkkuus, vaikka herkkyys onkin vaatimattomampi (23). Mittausta voidaan hyödyntää myös astman fenotyypin määrittämisessä (36). Typpimonoksidiä on tutkittu myös keuhkoastmatautin diagnoosin ja seurannan yhteydessä, mutta kliininen näyttö ei ole yhtä vakuuttavaa kuin astman kohdalla (37).

Helikobakteeritestin lisäksi uloshengityksen ¹³CO₂-mittausta voidaan käyttää myös muissa testeissä, jotka perustuvat ¹³C-leimatun substraatin metaboliaan elimistössä. Mahalaukun tyhjentymistä voidaan seurata ¹³C-leimatun spirulinalevän avulla. Isotooppileimattu levä imeytyy ruuansulatuksessa ja muuttuu maksan metabolian kautta ¹³C-hiilidioksidiksi (34). Kaikkiin ¹³CO₂-testeihin soveltuu sama, pitkään käytössä ollut ja hyvin validoitu analyysimetodologia. Etu on merkittävä verrattuna testeihin, jotka perustuvat uusiin hengityksen biomerkkiaineisiin ja joiden mittausten menetelmät täytyy kehittää ja validoida erikseen. Uusia uloshengityksen ¹³CO₂-testejä kehitetään muun muassa lääkkeitä metaboloivien entsyymien aktiivisuuden määrittämiseen (38).

Muut **TAULUKOSSA** mainitut testit ovat melko vähäisessä kliinisessä käytössä, ja kaiken kaikkiaan lista on hyvin lyhyt aihepiiriin pitkistä tutkimushistoriasta huolimatta. Tällä hetkellä aiheesta julkaistaan yli 2 000 tieteellistä artikkelia vuosittain. Kirjallisuudesta löytyy paljon julkaisuja esimerkiksi keuhkosyövän uloshengityksen biomerkkiaineista, joita on identifioitu jo lähes sata (39). Yksikään näistä ei kuitenkaan ole vielä siirtynyt kliiniseen käyttöön. Sama pätee myös moneen muuhun sairauteen, joihin hengitystestejä on kehitetty, kuten esimerkiksi diabetekseen, munuaisten vajaatoimintaan, kystiseen fibroosiin ja tuberkuloosiin (9,10,15,40–42).

Miten saada lisää testejä kliiniseen käyttöön?

Kliinisessä käytössä olevien hengitystestien vähäisyyteen on monia syitä. Useimmat kliiniset tutkimukset ovat olleet pieniä, eikä näytteenottoa tai analyysimenetelmiä ole laajasti standardoitu (29). Keuhkoista ja verenkierrasta peräisin olevien uloshengityskaasujen pitoisuus saavuttaa maksimin hengityssyklin loppuvaiheessa, ja variaatio hengitysmekaniikassa aiheuttaa vaihtelua mitattuihin pitoisuuksiin. Tästä syystä näytteenottomenetelmä on tärkeä osa analyysia ja vaikuttaa voimakkaasti mittaus tuloksiin.

Menestyksekkäin hengitystesti, FeNO, on hyvä esimerkki siitä, että biomerkkiaineen (NO) syntymekanismi hengitysteissä on hyvin ymmärretty, ja näytteenotto on standardoitu kansainvälisesti jo lähes 30 vuotta sitten (43). Typpimonoksidia muodostuu hengitysteiden lisäksi myös nenäontelossa, mikä täytyy ottaa huomioon näytteenotossa. Vuonna 2022 FDA:n nopeutetulla prosessilla hyväksymä COVID-19-uloshengitystesti on toisaalta esimerkki vastakkaisesta tapauksesta (35). Testin analysoimista viidestä biomerkkiaineesta tiedetään vain, että ne kuuluvat ketonien ja aldehydien kemiallisiin yhdisteryhmiin. Virusten hengity diagnostiikkaa hankaloittaa myös se, että viruksilla ei ole omaa metaboliaa, joten mahdolliset muutokset elimistön haihtuvissa yhdisteissä johtuvat isäntäsolujen metaboliahäiriöistä. Emme vielä tiedä, voidaanko virusinfektioille löytää spesifisiä biomerkkiaineita vai aiheuttavatko esi-

merkiksi erilaiset hengitystieinfektiot samanlaisia muutoksia uloshengitysilmaan (29).

On mielenkiintoista huomata, että melkein kaikki tähän mennessä viranomaishyväksynnän saaneista hengitystesteistä perustuvat yksittäisen biomerkkiaineen analyysin. Poikkeuksena on COVID-19-testin lisäksi sydänsiirteiden hylkimistä havaitseva testi, joka mittaa uloshengityksen alkaenien pitoisuuksia (29). Alan nykykäsityksen mukaan uusien hengitystestien kehittämisessä on kuitenkin tehokkainta mitata uloshengityksestä samanaikaisesti useita yhdisteitä, sen sijaan että keskityttäisiin vain yhteen biomerkkiaineeseen (20).

Lopuksi

Uloshengitysilma on lupaava väliaine lääketieteellisessä diagnostiikassa. Sen edut ovat kiistatonta: mittaus on kajoamaton, yksinkertainen ja koehenkilöltä voidaan ottaa hengitysnäyte kuinka usein tahansa. Uloshengitysilma tarjoaa hyviä mahdollisuuksia sairauksien varhaiseen havaitsemiseen ja hoitovasteen seurantaan. Hengitystestien kehitys ei kuitenkaan ole ollut aivan yhtä nopeaa kuin tutkijat ovat odottaneet. Tutkimusta tehdään aktiivisesti ympäri maailmaa, ja uusia hengitystestejä on luultavasti tulossa kliiniseen käyttöön tulevaisuudessakin, mutta mitään paradigmaa muuttavaa diagnostista vallankumousta on tuskin luvassa. ■

MARKUS METSÄLÄ, dosentti, yliopistonlehtori
Kemian osasto, Helsingin yliopisto

SIDONNAISUUDET
Markus Metsälä: Ei sidonnaisuuksia

KIRJALLISUUTTA

1. Amann A, Miekisch W, Schubert J, ym. Analysis of exhaled breath for disease detection. *Annu Rev Anal Chem* 2014;7:455–82.
2. Ahmadzai H, Huang S, Hettiarachchi R, ym. Exhaled breath condensate: a comprehensive update. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1343–61.
3. Dweik RA, Amann A. Exhaled breath analysis: the new frontier in medical testing. *J Breath Res* 2008;2:03030.
4. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, ym. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:2374–6.
5. Drabińska N, Flynn C, Ratcliffe N, ym. A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: The human volatilome. *J Breath Res* 2021;15:034001.
6. de Lacy Costello BPJ, Ledochowski M, Ratcliffe NM. The importance of methane breath testing: a review. *J Breath Res* 2013;7:024001.
7. Keppler F, Schiller A, Ehehalt R, ym. Stable isotope and high precision concentration measurements confirm that all humans produce and exhale methane. *J Breath Res* 2016;10:016003.
8. Simrén M, Stotzer PO. Use and abuse of hydrogen breath tests. *Gut* 2006;55:297–303.
9. Ruzsányi V, Kalapos MP. Breath acetone as a potential marker in clinical practice. *J Breath Res* 2017;11:024002.
10. Wang Z, Wang C. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements. *J Breath Res* 2013;7:037109.
11. Anderson JC. Measuring breath acetone for monitoring fat loss: Review. *Obesity* (Silver Spring) 2015;23:2327–34.
12. Schmidt FM, Vaittinen O, Metsälä M, ym. Ammonia in breath and emitted from skin. *J Breath Res* 2013;7:017109.
13. Chen W, Metsälä M, Vaittinen O, ym. The origin of mouth-exhaled ammonia. *J Breath Res* 2014;8:036003.
14. Brannelly NT, Hamilton-Shield JP, Kil-lard AJ. The measurement of ammonia in human breath and its potential in clinical diagnostics. *Crit Rev Anal Chem* 2016;46:490–501.
15. Chen W, Laiho S, Vaittinen O, ym. Bio-chemical pathways of breath ammonia (NH₃) generation in patients with end-stage renal disease undergoing hemodialysis. *J Breath Res* 2016;10:036011.
16. Mochalski P, King J, Mayhew CA, ym. A review on isoprene in human breath. *J Breath Res* 2023;17:037101.
17. King J, Kupferthaler A, Unterkofler K, ym. Isoprene and acetone concentration profiles during exercise on an ergometer. *J Breath Res* 2009;3:027006.
18. Sukul P, Richter A, Junghanss C, ym. Origin of breath isoprene in humans is revealed via multi-omic investigations. *Commun Biol* 2023;6:999.
19. Mochalski P, King J, Unterkofler K, ym. Unravelling the origin of isoprene in the human body—a forty year Odyssey. *J Breath Res* 2024;18:032001.
20. Beauchamp J, Davis, C, Pleil J, toim. Breathborne biomarkers and the human volatilome. (2. painos) Elsevier, 2020.
21. Metsälä M. Optical techniques for breath analysis: from single to multi-species detection. *J Breath Res*. 2018;12:027104.
22. Gisbert JP, Pajares JM. 13C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection—a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:1001–17.
23. Karrasch S, Linde K, Rücker G, ym. Accuracy of FENO for diagnosing asthma: a systematic review. *Thorax* 2017;72:109–16.
24. Maniscalco M, Lundberg JO. Hand-held nitric oxide sensor NIOX MINO® for the monitoring of respiratory disorders. *Expert Rev Respir Med* 2010;4:715–21.
25. Broza YY, Vishinkin R, Barash O, ym. Synergy between nanomaterials and volatile organic compounds for non-invasive medical evaluation. *Chem Soc Rev* 2018;47:4781–859.
26. Díaz de León-Martínez L, Flores-Rangel G, Alcántara-Quintana LE, ym. A review on long COVID screening: Challenges and perspectives focusing on exhaled breath gas sensing. *ACS Sensors*. 2025;10:1564–78.
27. Jezierski T, Walczak M, Ligor T, ym. Study of the art: canine olfaction used for cancer detection on the basis of breath odour. *J Breath Res* 2015;9:027001.
28. Virtanen J. Detecting Rhinosinusitis With an Electronic Nose Based on Differential Mobility Spectrometry. *Väitöskirja, Tampereen yliopisto* 2023.
29. Modak AS. Why have only a handful of breath tests made the transition from R&D to clinical practice? *J Breath Res*. 2024;18:012001.
30. Nagler J, Krauss, B. Capnography: a valuable tool for airway management. *Emerg Med Clin N Am*. 2008;26:881–97.
31. Hlastala, MP. The alcohol breath test—a review. *J Appl Physiol* 1998;84:401–8.
32. Christensen, RD, Malleske DT, Lambert DK, ym. Measuring end-tidal carbon monoxide of jaundiced neonates in the birth hospital to identify those with hemolysis. *Neonatology* 2015;109:1–5.
33. Phillips M, Boehmer JP, Cataneo RN, ym. Prediction of heart transplant rejection with a breath test for markers of oxidative stress. *Am J Cardiol*. 2004;94:1593–4.
34. Keller J, Hammer HF, Afolabi PR, ym. European guideline on indications, performance and clinical impact of 13C-breath tests in adult and pediatric patients: an EAGEN, ESNM, and ESPGHAN consensus, supported by EPC. *United European Gastroenterol J*. 2021;9:598–25.
35. Arnold C. Diagnostics to take your breath away. *Nat Biotechnol* 2022;40:990–93.
36. Dweik RA, Sorkness RL, Wenzel S, ym. Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:1033–41.
37. Turner SW, Chang, AB, Yang I A. Clinical utility of exhaled nitric oxide fraction in the management of asthma and COPD. *Breathe* 2019;15:306–16.
38. Modak AS. Regulatory issues on breath tests and updates of recent advances on [13C]-breath tests. *J Breath Res* 2013;7:037103.
39. Saalberg Y, Wolff M. VOC breath biomarkers in lung cancer. *Clin Chim Acta* 2016;459:5–9.
40. Khokhar M. Non-invasive detection of renal disease biomarkers through breath analysis. *J Breath Res*. 2024;18:024001.
41. Kos R, Brinkman P, Neerincx, AH, ym. Targeted exhaled breath analysis for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2022;21:e28–e34.
42. Saktiawati AM, Putera DD, Setyawan A, ym. Diagnosis of tuberculosis through breath test: a systematic review. *EBio-Medicine*. 2019;46:202–14.
43. Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997;10:1683–93.