Tampereen yliopisto

Henna Helsiaho & Venla Karppinen

VARHAISLAPSUUDEN SUOLISTOMIKROBISTON YHTEYDET LEIKKI-IKÄISEN LAPSEN ADHD-PIIRTEISIIN

Yhteiskuntatieteiden tiedekunta
Psykologian pro gradu -tutkielma
Kesäkuu 2025

TIIVISTELMÄ

Henna Helsiaho & Venla Karppinen: Varhaislapsuuden suolistomikrobiston yhteydet leikki-ikäisen lapsen ADHD-piirteisiin.
Pro gradu -tutkielma
Tampereen yliopisto
Psykologian tutkinto-ohjelma
Kesäkuu 2025

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, ovatko yksivuotiaan lapsen suolistomikrobiston monimuotoisuus ja koostumus yhteydessä vanhempien arvioimiin lapsen ADHD-piirteisiin 4–6 vuoden iässä, ja ovatko nämä yhteydet erilaisia tyttöjen ja poikien välillä. Suolistomikrobiston tiedetään vaikuttavan laajasti ihmisen hyvinvointiin, ja sen vuorovaikutuksesta keskushermoston kanssa saadaan jatkuvasti lisää tietoa tutkimusmenetelmien kehittyessä. Diagnosoidun ADHD:n ja suolistomikrobiston välillä on aiemmissa tutkimuksissa havaittu yhteyksiä, mutta diagnosoimattomien ADHD-piirteiden yhteyttä suolistomikrobistoon on tutkittu vain vähän. Sukupuolten välistä eroa näissä yhteyksissä ei ole tutkittu aiemmin. Suolistomikrobiston ja ADHD-piirteiden yhteyksien tutkiminen on tärkeää, sillä ADHD-piirteiden taustatekijöiden parempi tunnistaminen mahdollistaa paremman, oikea-aikaisen tuen tarjoamisen sitä tarvitseville. ADHD-piirteillä voi olla lievinäkin merkittäviä vaikutuksia ihmisten elämään.

Tutkimusaineistomme on osa HELMi-kohorttia, joka koostuu vuosina 2016–2018 pääkaupunkiseudulla syntyneistä lapsista. Tämän tutkimuksen aineisto koostui 278 lapsesta ja heidän vanhemmistaan. Lapsen suolistomikrobiston monimuotoisuutta ja koostumusta arvioitiin 12 kuukauden iässä kerätystä ulostenäytteestä. ADHD-piirteitä arvioitiin Conners-10-kyselyllä, jonka vanhemmat täyttivät lapsen ollessa 4–6-vuotias. Tarkastelimme kyselyn kokonaispistemäärää sekä kyselyn pohjalta muodostettujen alapiirteiden, levottomuuden ja impulsiivisuuden sekä tunteiden epävakaisuuden pistemääriä. Suolistomikrobiston monimuotoisuutta kuvaavan alfadiversiteetin (Shannon-indeksi) yhteyttä ADHD-piirteisiin sekä näiden yhteyksien eroja sukupuolten välillä tarkastelimme logistisella regressioanalyysilla. Suolistomikrobiston yhteyksiä ADHD-piirteisiin tutkimme PERMANOVA-analyysilla. Seuraavaksi tarkastelimme ADHD-piirteiden ja mikrobikoostumuksen välistä yhteyttä jakamalla mikrobinäytteet klustereihin bakteeriprofiilien perusteella. Mikrobiklusterien ja ADHD-piirteiden välisiä yhteyksiä sekä näiden yhteyksien eroja sukupuolten välillä tutkimme logistisella regressioanalyysilla. Lopuksi tutkimme yksittäisten bakteerisukujen yhteyksiä ADHD-piirteisiin MaAsLin2-menetelmällä ensin koko otoksessa ja sitten erikseen tytöillä ja pojilla.

Tässä tutkimuksessa vauvaiän suolistomikrobiston koostumus oli yhteydessä vanhemman arvioimaan tunteiden epävakaisuuteen leikki-iässä. Verrattuna *Bifido/Faecali*-klusteriin kuulumiseen *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen ja lapsen sukupuoli olivat yhdessä yhteydessä tunteiden epävakaisuutta mittaavan alaskaalan pistemäärään, kun taustamuuttujien vaikutus kontrolloitiin. Pojilla Veillonella/Bifido-klusteriin kuuluminen oli yhteydessä korkeampiin pisteisiin tunteiden epävakaisuudessa, kun taas tytöillä vastaavaa yhteyttä ei havaittu. Tutkimuksessamme tuli ilmi lisäksi ADHD-piirteisiin mahdollisesti yhteydessä olevia bakteerisukuja. Sukupuolten välillä ilmeni joitain eroja yksittäisten bakteerisukujen määrässä eri ADHD-piirteissä. Yhteydet olivat kuitenkin heikkoja ja taustamuuttujien vaikutus merkittävä. Vauvan suolistomikrobiston monimuotoisuus ei ollut yhteydessä vanhemman arvioimiin ADHD-piirteisiin.

Tutkimustulostemme perustella vauvaiän suolistomikrobiston monimuotoisuudella ei vaikuta olevan keskeistä roolia ADHD-piirteiden esiintyvyyteen leikki-iässä. Sen sijaan suolistomikrobiston koostumus vaikuttaa olevan yhteydessä lapsen vanhempien arvioimiin ADHD-piirteisiin, erityisesti tunteiden epävakaisuuteen. Mikrobiston koostumuksen yhteyksissä ADHD-piirteisiin näyttäisi lisäksi olevan eroja sukupuolten välillä. Lisätutkimusta tarvitaan erityisesti suolistomikrobiston yhteyksistä erilaisiin ADHD-piirteisiin sukupuolten väliset erot huomioon ottaen.

Avainsanat: Suolistomikrobisto, lapset, ADHD, levottomuus, impulsiivisuus, tunteiden epävakaisuus

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.
Opinnäytteessä ei ole käytetty tekoälysovelluksia.

SISÄLTÖ

1. JOHDANTO **1**
1.1. ADHD 2
1.2. Suolistomikrobisto 4
1.3. Mikrobisto-suoli-aivoakseli 6
1.4. Suolistomikrobiston yhteys ADHD:seen 8
1.5. Tutkimuskysymykset ja hypoteesit 10
2. MENETELMÄT **11**
2.1. Aineisto ja tutkittavat 11
2.2. Menetelmät ja muuttujat 12
2.2.1. Lasten ADHD-piirteet 12
2.2.2. Mikrobinäytteiden keräys ja esikäsittely 13
2.2.3. Sekvenssiaineiston esikäsittely 13
2.2.4. Mikrobiaineiston analysointi 15
2.2.5. Taustamuuttujat 18
2.3. Tilastolliset analyysit 19
3. TULOKSET **20**
3.1. Kuvailevat tulokset 20
3.2. Suolistomikrobiston monimuotoisuus ja ADHD-piirteet 24
3.3. Suolistomikrobiston koostumus ja ADHD-piirteet 26
4. POHDINTA **30**
4.1. Suolistomikrobiston yhteys ADHD-piirteisiin 30
4.1.1. Suolistomikrobiston yhteys ADHD-piirrekyselyn kokonaispisteisiin 31
4.1.2. Suolistomikrobiston yhteys ADHD:n alapiirteisiin 32
4.1.3. Sukupuolten väliset erot suolistomikrobiston ja ADHD-piirteiden yhteyksissä 33
4.2. Tutkimuksen vahvuudet ja rajoitukset 34
4.3. Tutkimuksen merkitys ja jatkotutkimus 35
4.4. Johtopäätökset 37
LÄHTEET **38**

1. JOHDANTO

Aktiivisuuden ja tarkkaavuuden häiriön eli ADHD:n diagnoosit ovat yleistyneet Suomessa viime vuosina, mikä tekee häiriöstä merkittävän kuormitustekijän paitsi yksilölle ja hänen läheisilleen, myös sosiaali- ja terveyspalveluille (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [THL], 2024). Häiriön oireet ja piirteet ilmenevät usein jo varhain lapsuudessa, ja häiriön varhainen tunnistaminen on eduksi muun muassa tuen saamisen kannalta (Smidts & Oosterlaan, 2007). Häiriön tyypillisen oirekuvan lisäksi ADHD lisää riskiä monille muille psykiatrisille häiriöille, ja oireiden on havaittu muun muassa lisäävän haasteita koulunkäynnissä sekä työelämässä (Erskine ym., 2016). ADHD siis vaikuttaa yksilön arkeen ja elämään laajasti, usein vielä aikuisuudessakin (Erskine ym., 2016). ADHD-diagnooseja pidetään usein ääripäänä jatkumolle, johon sisältyy myös lievempiä ADHD-tyyppisiä piirteitä (Rodriguez ym., 2007). Myös nämä piirteet ja oireet voivat vaikuttaa kielteisesti muun muassa koulusuoriutumiseen, ja siksi on oleellista tutkia myös subkliinisiä oireita sen sijaan, että tutkimuskohteena olisi ainoastaan diagnoosin saaneet yksilöt (Rodriguez ym., 2007). ADHD on hyvin tutkittu neuropsykiatrinen häiriö, jonka taustalla tiedetään vaikuttavan niin perinnölliset kuin ympäristöllisetkin tekijät (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019; D. Silva ym., 2014). Tästä huolimatta sen kaikkia taustatekijöitä ei tunneta.

Kiinnostus suolistomikrobistoa kohtaan on lisääntynyt psykologiassa, kun kehittyvä teknologia on mahdollistanut yhä tarkemman suolistomikrobiston tutkimuksen, ja aivojen ja suoliston välisiä yhteyksiä ymmärretään paremmin (Shoubridge ym., 2022). Nykyään suoliston ja aivojen vaikutukset toisiinsa tunnistetaan, ja kehittyvät tutkimusmenetelmät mahdollistavat jatkuvasti syvemmän ymmärryksen suoliston ja aivojen vuorovaikutuksesta. Suolistomikrobisto viestii keskushermoston kanssa lukuisten reittien kautta, joiden kautta se voi vaikuttaa aivojen kehitykseen sekä toimintaan (Margolis ym., 2021). Suoliston mikrobistolla on tutkimuksissa havaittu yhteyksiä muun muassa mielenterveyden häiriöihin sekä neurokehityksellisiin häiriöihin, mikä tekee siitä tärkeän tutkimuskohteen myös psykologisessa tutkimuksessa (Borre ym., 2014; Shoubridge ym., 2022). Varhaislapsuus on aivojen kehityksen lisäksi tärkeää aikaa suolistomikrobiston kehitykselle, minkä vuoksi on tärkeää tarkastella niiden välisiä yhteyksiä erityisesti ensimmäisinä elinvuosina (Borre ym., 2014).

Suolistomikrobisto on tuonut uutta näkökulmaa myös ADHD:n tutkimiseen. Monissa tutkimuksissa on havaittu, että suoliston mikrobistolla ja ADHD:lla on yhteyksiä toisiinsa (esim. Jiang ym., 2018; Wan ym., 2020). Vähemmän kuitenkin tiedetään mikrobiston yhteyksistä ADHD-

piirteisiin ei-kliinisissä aineistoissa. Tarkempi ymmärrys ADHD:n taustatekijöistä voi mahdollistaa esimerkiksi uusien, tehokkaampien interventioiden ja preventioiden tarjoamisen. Tässä pro gradu -tutkielmassa tarkastelemme, onko yksivuotiaan suolistomikrobiston monimuotoisuus ja koostumus yhteydessä vanhempien arvioimiin ADHD-piirteisiin 4–6 vuoden iässä suomalaisilla lapsilla.

1.1. ADHD

ADHD on kehityksellinen, lapsuudessa ilmenevä neuropsykiatrinen häiriö, josta voidaan ICD-10:n (International Classification of Diseases) mukaisesti erotella tarkkaamattomuus- ja yliaktiivisuusoireiden perusteella kolme esiintymismuotoa: pääasiassa tarkkaamaton muoto, pääasiassa impulsiivinen muoto tai näiden yhdistelmä (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019). Käytännössä tarkkaavuuteen liittyvät oireet voivat ilmetä muun muassa vaikeutena keskittyä, vaikeutena noudattaa ohjeita sekä häiriöalttiutena ulkopuolisille ärsykkeille (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019). Ylivilkkauden ja impulsiivisuuden oireita ovat esimerkiksi vaikeus pysyä paikoillaan, motorinen aktiivisuus, vaikeus esimerkiksi odottaa omaa vuoroa sekä tilanteeseen sopimaton äänekkyys ja puheen määrä (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019). Käytännössä ADHD vaikuttaa yksilön arkeen monin tavoin. Komorbiditeetti psykiatristen häiriöiden kanssa on korkea ADHD:ssa, ja ADHD lisää riskiä monille psykiatrisille häiriöille, kuten masennukselle, ahdistukselle ja päihdehäiriöille, sekä on riskinä rikollisuudelle aikuisuudessa (Erskine ym., 2016). ADHD:n on myös havaittu heikentävän yksilön suoriutumista koulussa ja myöhemmin työelämässä, ja sitä kautta se vaikuttaa myös muun muassa sosioekonomiseen asemaan (Erskine ym., 2016).

ADHD:n esiintyvyyden arviot vaihtelevat: eri tutkimuksissa esiintyvyyden on arvioitu olevan 5 prosentista jopa 10 prosenttiin, ja se laskee aikuisuutta kohti (Polanczyk ym., 2007; Willcutt, 2012). Niiden lasten osuus, joilla on ADHD-piirteitä, on merkittävästi suurempi kuin diagnoosin saaneiden määrä, ja erään tutkimuksen mukaan jopa 40 prosentilla leikki-ikäisistä on joitain ADHD:n tyypillisiä oireita (Smidts & Oosterlaan, 2007). Keskustelua on viime vuosina herättänyt se, diagnosoidaanko ADHD:ta liikaa sen todelliseen määrään nähden väestössä, mutta tutkimustulokset aiheesta ovat olleet hyvin ristiriitaisia (Sciutto & Eisenberg, 2007). Joka tapauksessa ADHD-oireet aiheuttavat yksilölle moninaista haittaa arjessa, minkä vuoksi diagnosointi, ja sitä kautta hoidon tarjoaminen ajoissa ovat oleellisia hyvinvoinnin kannalta (Erskine ym., 2016). ADHD on aiemmin nähty

pääasiassa lasten häiriönä, mutta nykyään tunnistetaan sen jatkuvuus aikuisuuteen (Tarver ym., 2014).

ADHD on usein jo varhain leikki-iässä ilmenevä häiriö, mutta varhaislapsuudessa ADHD:n tunnistaminen voi olla haastavaa, sillä erityisesti pienillä lapsilla yliaktiivinen käyttäytyminen voi olla hyvinkin yleistä ja ikäryhmälle tyypillistä (Smidts & Oosterlaan, 2007). ADHD-oireilussa on kuitenkin havaittu merkittävää jatkuvuutta varhaislapsuudesta varhaisnuoruuteen (Riddle ym., 2013). Onkin ehdotettu, että erityisesti tarkkaamattomuuteen viittaavat oireet voivat olla varhaislapsuudessa selkeämpi merkki ADHD:sta, kun impulsiivinen käytös on vielä ikäryhmälle tavallista (Smidts & Oosterlaan, 2007). ADHD diagnosoidaan tyypillisimmin vasta kouluiässä, mikä johtuu juuri piirteiden normaalista vaihtelusta varhaisemmassa vaiheessa (THL, 2012). ADHD voidaan diagnosoida myös myöhemmin elämässä, nuoruudessa tai aikuisuudessa (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019).

ADHD diagnosoidaan pojilla tyttöjä yleisemmin, ja tytöt saavat diagnoosin keskimäärin poikia myöhemmin (Skoglund ym., 2024; Willcutt, 2012). Tyttöjen ja poikien välisiä eroja ADHD-oireilussa on tutkittu paljon, ja naisten ADHD-oireilun on havaittu esimerkiksi olevan yleisemmin internalisoivaa, impulsiivisuuden ollessa matalampaa, kun taas poikien haasteet ovat tavallisemmin eksternalisoivia (Gershon, 2002). Lisäksi komorbiditeetin, kuten masennus- tai ahdistusoireiden, on tytöillä havaittu olevan yleisempiä, mikä vaikuttaa kielteisesti elämänlaatuun (Gershon, 2002; Skoglund ym., 2024).

ADHD on aivotasolla näkyvä, vahvasti perinnöllinen häiriö, jonka heritabiliteetin on monessa tutkimuksessa arvioitu olevan yli 70 prosenttia (Price ym., 2005; Rietveld ym., 2004). Joitakin yksittäisiä geenejä ADHD:n taustalla on tunnistettu, ja häiriön geneettinen tausta liittyy ainakin dopamiini- ja serotoniiniaineenvaihduntaan (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019). Erityisesti dopamiiniradoilla vaikuttaa olevan oleellinen rooli ADHD:ssa aivotasolla, ja ADHD:ssa on havaittu häiriöitä aivojen dopamiiniradoissa ja -reseptoreissa (Volkow ym., 2009). Tämän lisäksi ADHD on näkynyt aivoissa kuvantamistutkimuksissa aivojen rakenteellisina eroina. Muun muassa aivokuoren on havaittu olevan ohuempi ja harmaan aineen määrä vähäisempi kontrolleihin verrattuna, ja eroja on erityisesti tarkkaavuuteen ja toiminnanohjaukseen osallistuvilla aivoalueilla (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019; Batty ym., 2010; Shaw ym., 2007).

Perimän ja ympäristön vuorovaikutus on ADHD:ssa, kuten muissakin psykiatrisissa häiriöissä, merkittävä, ja taustatekijät ADHD:n taustalla ovat moninaisia. Raskaudenaikaisista tekijöistä muun muassa ennenaikaisella syntymällä, alhaisella syntymäpainolla, raskausmyrkytyksellä sekä äidin raskauden aikaisella tupakoinnilla on havaittu yhteys ADHD:seen (Johnson ym., 2010; D. Silva ym., 2014). Syntymän jälkeen esimerkiksi äidinmaidon saanti on

havaittu suojaavaksi tekijäksi ADHD:n riskiä vähentäen (Soled ym., 2021). Kielteiset lapsuuden kokemukset, kuten vanhempien päihteiden käyttö, vanhemmista eroon joutuminen sekä vanhempien psyykkiset häiriöt on myös yhdistetty ADHD:n riskiin erityisesti useiden kielteisten kokemusten kasaantuessa (Björkenstam ym., 2018).

ADHD:n hoito on monipuolista. ICD:n mukaisiin hoitomuotoihin kuuluu lääkehoitoa, joista yleisin on metyylifenidaatti, sekä psykososiaalista hoitoa kuten muun muassa käyttäytymishoitoa, toimintaterapiaa, neuropsykologista kuntoutusta tai psykoterapiaa (ADHD: Käypä hoito -suositus, 2019). Uusia hoitomuotoja kehitetään jatkuvasti lisää. Erilaiset suoliston kautta vaikuttavat probioottihoidot ovat olleet tutkimuksen kohteena viime vuosina, ja niillä on saatu lupaavia tuloksia muun muassa joidenkin mielenterveyshäiriöiden oireiden vähentämisessä (Liu ym., 2015). Vastaavanlaisella interventiolla on myös havaittu vaikutuksia ADHD:n riskiin lapsilla (Pärtty ym., 2015). Vaikka yksittäisiin tutkimustuloksiin on suhtauduttava varoen, saadut tulokset probioottien vaikuttavuudesta heijastelevat suolistomikrobiston roolia käyttäytymisessä ja luovat pohjaa uusille tulevaisuuden mahdollisuuksille yhä paremmassa neuropsykiatristen häiriöiden hoidossa.

Kiinnostus suolistomikrobiston vaikutuksesta aivoihin ja psykiatrisiin sekä neuropsykiatrisiin häiriöihin on viime vuosina lisääntynyt, ja mikrobiston yhteys aivojen kehitykseen ja käyttäytymiseen on saanut tukea useista tutkimuksista (Borre ym., 2014; Heijtz ym., 2011; Sordillo ym., 2019). Mikrobistolla on havaittu mahdollisia vaikutuksia muun muassa kommunikaatiotaitojen, sosiaalisten taitojen ja motoristen taitojen kehitykseen pienillä lapsilla (Sordillo ym., 2019). Ensimmäiset elinvuodet ovat aivojen kehitykselle kriittistä aikaa, ja nämä vuodet ovat oleellisia myös ihmisen suoliston mikrobiston kehityksen kannalta (Borre ym., 2014). Aivojen plastisuus erityisesti varhaislapsuudessa, ja sitä kautta alttius lukuisille ympäristön vaikutuksille, tekeekin varhaislapsuuden suolistomikrobistosta kiinnostavan tutkimuskohteen myös ADHD:ta tutkittaessa. Näiden yhteyksien tutkiminen mahdollistaa syvemmän ymmärryksen ADHD:n taustamekanismeista.

1.2. Suolistomikrobisto

Ihmisen suolistossa elää lukuisia bakteereja, sieniä, arkeoneja sekä viruksia, jotka yhdessä muodostavat suolistomikrobiston (Fülling ym., 2019; Margolis ym., 2021). Bakteerien osuus suolistomikrobistosta on lukumäärällisesti suurin, ja näin ollen suuri osa suolistomikrobiston tutkimuksista keskittyy nimenomaan bakteereihin (Margolis ym., 2021). Suolistomikrobistolla on

monia ihmiskehon toiminnan kannalta oleellisia tehtäviä. Se muun muassa osallistuu suolen limakalvon ylläpitoon, aineenvaihduntaan sekä immuunipuolustukseen, minkä vuoksi suolistomikrobisto on tärkeä osa koko ihmiskehoa (Jandhyala ym., 2015).

Suolistomikrobiston merkittävin kolonisaatio alkaa syntymän hetkellä, vaikka joissain tutkimuksissa suolistomikrobeja tai niiden DNA:ta on löydetty esimerkiksi istukasta sekä vastasyntyneen ensimmäisestä ulosteesta (Jiménez ym., 2008; Satokari ym., 2009). Vauvan suolistomikrobiston ensimmäisiä tärkeitä bakteerien pääjaksoja ovat Actinobacteria ja Proteobacteria, ja erityisesti *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* ja *Bacteroides* ovat yleisiä vauvan suoliston bakteerisukuja (Bäckhed, 2011; Martin ym., 2016). Imettämisen lopetus ja kiinteän ruuan aloitus vaikuttavat mikrobiston kypsymiseen lähemmäs monipuolisempaa aikuisen mikrobistoa (Bäckhed ym., 2015). Suoliston mikrobiston koostumus ja sen monipuolisuus vastaavat aikuisen mikrobistoa noin kolmen vuoden iässä (Yatsunenko ym., 2012). Siinä missä Actinobacteria ja Proteobacteria ovat runsaimpia ensimmäisinä elinvuosina, lisääntyy Firmicutes- ja Bacteroidetes-pääjaksojen määrä mikrobiston kehittyessä (Eckburg ym., 2005).

Suolistomikrobiston koostumuksessa on havaittu eroja sukupuolten välillä (Dominianni ym., 2015). Sukupuoleen liittyvät tutkimustulokset ovat kuitenkin ristiriitaisia. Esimerkiksi eräässä tutkimuksessa naisilla oli havaittu *Bacteroides*-suvun vähäisempi määrä (Dominianni ym., 2015), kun taas toisessa naisilla on havaittu olevan enemmän kyseistä sukua miehiin verrattuna (Singh & Manning, 2016). Mitään sukupuolille tyypillisiä selkeitä mikrobiprofiileja ei siis ole tunnistettu, vaikka yksittäisiä eroja onkin tutkimustuloksissa havaittu.

Sukupuolen lisäksi muu perimä, kuin myös monet ympäristötekijät vaikuttavat yksilön suolistomikrobistoon. Joillakin geeneillä on havaittu vahva vaikutus mikrobiston koostumukseen läpi elämän (Zoetendal ym., 2001). Yksilöllinen vaihtelu mikrobiston koostumuksessa on kuitenkin suurta, ja ympäristöllä on merkittävä rooli mikrobiston koostumuksessa (Yatsunenko ym., 2012). Erityisesti monet varhaisen elämän tekijät, kuten synnytys, vaikuttavat mikrobistoon. Alateitse syntyneiden vauvojen suolistomikrobisto on lähellä äidin omaa suolistomikrobistoa sekä emättimen mikrobistoa, ja muun muassa *Lactobacillus-, Bifidobacterium-* ja *Bacteroides*-suvut ovat yleisiä alateitse syntyneillä vauvoilla (Bäckhed ym., 2015; Dominguez-Bello ym., 2010). Sektiolla syntyneiden vauvojen suolistomikrobiston taas on havaittu muistuttavan laadultaan enemmän äidin ihon sekä ympäröivän ympäristön mikrobistoa muun muassa *Staphylococcus-* ja *Clostridium-*bakteerisukujen ollessa runsaampia alateitse syntyneisiin verrattuna (Dominguez-Bello ym., 2010; Martin ym., 2016). Myös ennenaikaisella syntymällä voi olla vaikutuksia mikrobiston koostumukseen (Forsgren ym., 2017). Vauvan varhainen ravinto vaikuttaa niin ikään mikrobiston kehitykseen. Äidinmaitoa saavien vauvojen bakteerien määrä on havaittu pienemmäksi kuin

korvikemaitoa saaneiden, ja korvikemaitoa saaneiden mikrobisto on todennäköisemmin lähempänä aikuisen mikrobistoa samanikäisiin äidinmaitoa saaneisiin verrattuna (Bäckhed ym., 2015; Martin ym., 2016). Vauva-ajan tekijöiden lisäksi esimerkiksi eri maantieteellisten alueiden ja kulttuurien välillä on havaittu eroavaisuuksia yksilöiden suolistomikrobistoissa (Yatsunenko ym., 2012). Kulttuuri ja ympäristö vaikuttavat moniin tekijöihin, kuten ruokavalioon sekä eläimille altistumiseen, mitkä puolestaan vaikuttavat mikrobiston koostumukseen (Yatsunenko ym., 2012). Antibiootit vaikuttavat suolistomikrobiston koostumukseen, ja niiden on havaittu vaikuttavan muun muassa bakteerien vähäisempään lukumäärään suolistossa (Martin ym., 2016). Suolistomikrobistoon voidaan vaikuttaa myös esimerkiksi ravintoon lisättyjen probioottien ja prebioottien avulla (Peng ym., 2020).

Fyysisten sairauksien lisäksi suolistomikrobistolla on havaittu yhteyksiä moniin psykiatrisiin ja neuropsykiatrisiin häiriöihin, kuten masennukseen, ahdistukseen sekä ADHD:seen (Evrensel & Ceylan, 2015, Jiang ym., 2018). Nykytiedon mukaan suolistomikrobisto ja aivot ovat jatkuvassa vuorovaikutuksessa vaikuttaen toinen toisiinsa useiden mekanismien kautta (Margolis ym., 2021).

1.3. Mikrobisto-suoli-aivoakseli

Suolistomikrobit ovat suorassa ja epäsuorassa, kaksisuuntaisessa yhteydessä keskushermostoon mikrobisto-suoli-aivoakselin kautta (Margolis ym., 2021). Mikrobisto-suoli-aivoakseliin kuuluvat suolistomikrobiston ja keskushermoston lisäksi autonominen hermosto eli sympaattinen, parasympaattinen ja ruoansulatuskanavaa ohjaava enteerinen hermosto sekä hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaiskuori- eli HPA-akseli (Carabotti ym., 2015). Keskeisiä kanavia suoliston mikrobiston viesteille keskushermostoon mikrobisto-suoli-aivoakselin kautta ovat hermoyhteydet, umpieritys-, aineenvaihdunta- ja immuunijärjestelmä (Carabotti ym., 2015; Margolis ym., 2021).

Suorin ja nopein viestintäkanava suolistomikrobiston ja aivojen välillä on parasympaattiseen hermostoon kuuluva kiertäjähermo eli vagushermo (Fülling ym., 2019). Vagushermo koostuu sekä viejä- että tuojahaarakkeista, ja se säätelee monia kehonsisäisiä toimintoja, kuten ruoansulatusta, sydämensykettä ja hengitystiheyttä (Breit ym., 2018). Vagushermo saa mikrobistolta viestejä sekä tuovien että vievien hermosolujen kautta esimerkiksi mikrobirikkaalta paksusuolen limakalvolta (Bonaz ym., 2018). Se vaikuttaakin olevan keskeinen kommunikaatioväylä mikrobiston ja aivojen välillä: hiiritutkimuksissa esimerkiksi *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ent. *Lactobacillus rhamnosus*) ja *Bifidobacterium longum* -bakteereilla on saatu aikaan muutoksia hiirien ahdistus- ja

masennuskäyttäytymiseen, eikä näitä käyttäytymisen muutoksia tai niihin liittyviä neurokemiallisia muutoksia ole näkynyt niillä hiirillä, joiden vagushermo oli katkaistu (Bercik ym., 2011; Bravo ym., 2011). Suolistomikrobisto viestii myös ruoansulatustoimintoja säätelevän enteerisen hermoston kanssa, ja enteerinen hermosto voi puolestaan moduloida suolistomikrobiston koostumusta esimerkiksi suolen läpäisevyyden, eritystoiminnan ja immuunipuolustuksen muutosten kautta (Margolis ym., 2021).

Suolistomikrobisto vaikuttaa aivoihin myös epäsuorasti esimerkiksi valmistamalla tärkeitä aineenvaihdunnan tuotteita, kuten lyhytketjuisia rasvahappoja, vitamiineja sekä hermovälittäjäaineita ja niiden esiasteita (Cryan & Dinan, 2012). Lyhytketjuiset rasvahapot syntyvät bakteerien fermentoidessa ravinnosta saatuja kuituja, ja niiden ajatellaan medioivan mikrobiston ja keskushermoston välistä viestintää monien reittien kautta, esimerkiksi vaikuttamalla tulehdukseen ja hormonaaliseen säätelyyn sekä vuorovaikuttamalla vagushermon tuojahaarakkeiden kanssa (Dalile ym., 2019). Lyhytketjuiset rasvahapot vaikuttavat suolen ja veriaivoesteen läpäisevyyteen ja näin siihen, mitä aineita suolesta pääsee verenkiertoon, ja verenkierrosta aivoihin ja selkäydinnesteeseen (Y. P. Silva ym., 2020). Välittäjäaineista suolistobakteerit pystyvät tuottamaan erimerkiksi hermostoa inhiboivaa GABA:a, palkkiojärjestelmän kannalta keskeistä dopamiinia sekä serotoniinia ja noradrenaliinia ja esimerkiksi serotoniinin esiaste tryptofaania (Margolis ym., 2021). On ehdotettu, että poikkeava mikrobiston koostumus voisi johtaa epätavallisiin määriin välittäjäaineita ja näin vaikuttaa esimerkiksi neuropsykiatristen häiriöiden, kuten ADHD:n syntyyn (Wan ym., 2020). Vitamiineista suolistomikrobit tuottavat esimerkiksi B-ryhmän vitamiineja, kuten B6-vitamiinia (Hill, 1997; Magnúsdóttir ym., 2015; Said ym., 2008), joka osallistuu välittäjäaineiden aineenvaihduntaan ja synteesiin (Calderón-Ospina & Nava-Mesa, 2020).

Umpieritysjärjestelmästä keskeinen linkki mikrobiston ja aivojen välisessä kommunikaatiossa on hypotalamus-aivolisäke-lisämunuaisakseli eli HPA-akseli, joka säätelee stressireaktioita ja vapauttaa stressihormoni kortisolia lisämunuaisesta (Carabotti ym., 2015). Suolistomikrobiston on eläintutkimuksissa havaittu vaikuttavan stressireaktiivisuuteen, ahdistustyyppiseen käyttäytymiseen ja HPA-akselin aktivoitumiseen (Carabotti ym., 2015). HPA-akselin toiminta voi puolestaan vaikuttaa suolistomikrobistoon, ja esimerkiksi varhaislapsuuden stressillä voi olla pitkäaikaisia vaikutuksia suolistomikrobiston koostumukseen (Cryan & Dinan, 2012).

Suolistomikrobisto vaikuttaa myös immuunijärjestelmään: mikrobiston avulla immuunijärjestelmä oppii tunnistamaan hyödyllisiä ja haitallisia bakteereja, mikä vaikuttaa immuunipuolustuksen reaktioherkkyyteen (Macpherson & Harris, 2004). Mikrobisto voi näin aktivoida immuunireaktioita ja toisaalta ehkäistä ei-toivottuja immuunireaktioita, kuten allergisia reaktioita (Forsythe & Bienenstock, 2010; Margolis ym., 2021). Immuunijärjestelmä voi havaita

suoliston mikrobeja ja viestiä tästä enteeriselle hermostolle, mikä puolestaan voi muuttaa hermoston kehitystä ja toimintaa (Margolis ym., 2021). Toisaalta aivot vaikuttavat suoliston limakalvojen eheyteen säätelemällä suoliston toimintaa, kuten limakalvojen immuunireaktioita, ja häiriöt mikrobisto-suoli-aivoakselissa voivat näin vaikuttaa negatiivisesti mikrobeille tärkeään kasvuympäristöön (Carabotti ym., 2015).

1.4. Suolistomikrobiston yhteys ADHD:seen

Kiinnostus suolistomikrobiston ja ADHD:n yhteyksistä on lisääntynyt viime vuosina paljon, ja lukuisat tutkimustulokset ovat viitanneet suolistomikrobiston ja mikrobisto-suoli-aivoakselin keskeiseen rooliin monissa psykiatrisissa häiriöissä, kuten ADHD:ssa (esim. Jiang ym., 2018; Wan ym., 2020). ADHD:seen yhteydessä olevista tekijöistä osa, kuten esimerkiksi ennenaikainen syntymä ja rintaruokinnan kesto, ovat sellaisia, jotka vaikuttavat myös merkittävästi suolistomikrobistoon (Bäckhed ym., 2015; Forsgren ym., 2017). Suolistomikrobiston ja keskushermoston tiiviin yhteyden vuoksi voidaan ajatella, että muutokset tai häiriöt mikrobikoostumuksessa voivat tehdä alttiiksi myös neuropsykiatrisille häiriöille.

Suolistomikrobiston tutkimuksissa mikrobinäytteistä mitataan alfa- ja betadiversiteettejä, jotka kuvaavat tilastollisia eroja näytteiden koostumuksissa. Alfadiversiteetti mittaa mikrobinäytteen monimuotoisuutta, eli siinä havaittujen lajien lukumäärää sekä eri lajien lukumäärien tasaisuutta (X. C. Morgan & Huttenhower, 2012). Betadiversiteetti puolestaan mittaa kahden eri näytteen välisiä eroja niiden koostumusten perusteella (X. C. Morgan & Huttenhower, 2012).

Tulokset mikrobiston monimuotoisuudesta ADHD-diagnoosin saaneilla ovat olleet ristiriitaisia. Wangin ja kumppaneiden (2020) sekä Cassidy-Bushrown ja kumppaneiden (2023) tutkimuksissa mikrobiston monimuotoisuus oli korkeampi ADHD-diagnoosin saaneilla lapsilla verrattuna terveisiin verrokkeihin. Prehn-Kristensenin ja kumppaneiden tutkimuksessa (2018) alfadiversiteetti oli puolestaan matalampi ADHD-diagnoosin saaneilla lapsilla. Osassa ADHD:n ja suolistomikrobiston yhteyksiä tarkastelevissa tutkimuksissa monimuotoisuudessa ei ole havaittu eroja ADHD-diagnoosin saaneiden lasten tai aikuisten ja verrokkien välillä (Aarts ym., 2017; Jiang ym., 2018; Wan ym., 2020).

Usein betadiversiteettiä kiinnostavampaa on tarkastella sitä, miten yksittäisten bakteeriryhmien määrät eroavat eri ryhmien välillä, sillä se mahdollistaa bakteereista oireita

aiheuttavien biomarkkereiden tunnistamisen ja ryhmien välisten erojen tarkemman tarkastelun. Jiangin ja kumppaneiden (2018) tutkimuksessa tarkasteltiin 6–12-vuotiaita lapsia ja havaittiin, että *Faecalibacterium*-suvun bakteereita oli vähemmän ADHD-diagnoosin saaneiden lasten suolistoissa verrattuna verrokkien suolistoihin, ja että näiden bakteerien määrä korreloi negatiivisesti ADHD-oireiden vakavuuden kanssa. Myös *Dialister*-sukua esiintyi ADHD-diagnosoiduilla lapsilla verrokkeja vähemmän. Niin ikään Wanin ja kumppaneiden (2020) 6–12-vuotiaita lapsia tarkastelevassa tutkimuksessa ADHD-diagnoosin saaneiden lasten suolistoissa esiintyi verrokkeja vähemmän *Faecalibacterium*-suvun bakteereja, sekä sen lisäksi vähemmän *Veillonellaceae*-heimon bakteereja ja enemmän *Odoribacter*- ja *Enterococcus*-suvun bakteereja.

Prehn-Kristensen ja kumppanit (2018) havaitsivat tutkimuksessaan *Prevotella*- ja *Neisseria*-sukujen bakteerien vähäisemmän määrän ADHD-diagnoosin saaneilla verrokkeihin nähden, ja tulokset olivatkin löydettyjen sukujen osalta erilaisia moneen muuhun vastaavaan tutkimukseen verrattuna. Lisäksi heidän tutkimuksessaan *Bacteroides*-suvun bakteereja oli enemmän ADHD-diagnoosin saaneilla verrokkeihin nähden. Tutkimuksessa ADHD-diagnoosin saaneiden iän keskiarvo oli 11,9 ja verrokkiryhmän iän keskiarvo 13,1, ja kaikki osallistujat olivat poikia. Myös Wangin ja kumppaneiden (2020) tutkimuksessa havaittiin joidenkin *Bacteroides*-suvun bakteerien lisääntynyt määrä ADHD-diagnoosin saaneilla. Tutkimukseen osallistui 6–16-vuotiaita lapsia ja nuoria. Tässä tutkimuksessa havaittiin kahden *Bacteroides*-sukuun kuuluvan lajin (*B. Uniformis ja B. Ovatus*) sekä erään *Sutterella*-suvun bakteerin (*S. Stercoricanis*) olevan kohonneella tasolla ADHD-diagnoosin saaneilla, ja *Bacteroides*-sukuun kuuluvan *B. Coprocola*-bakteerin määrän olevan vähäisempi kuin verrokeilla.

Aartsin ja kumppaneiden (2017) tutkimuksessa tarkasteltiin ADHD-diagnoosin saaneiden ja verrokkien mikrobiomien välisiä eroja nuorilla ja aikuisilla. Ryhmien välillä merkittävin ero oli Actinobacteria-pääjakson esiintyvyydessä pääjakson bakteerien, kuten *Bifidobacterium*-suvun bakteerien, määrän ollessa suurempi ADHD-potilailla.

Tutkimukset ADHD:n ja suolistomikrobiston välisistä yhteyksistä ovat pitkälti olleet tapaus-verrokkitutkimuksia, ja pitkittäistutkimuksia ADHD:n ja suolistomikrobiston yhteyksistä on käsityksemme mukaan tehty jonkin verran vähemmän. Cassidy-Bushrown ja kumppaneiden (2023) pitkittäistutkimuksessa ulostenäytteet otettiin 1 ja 6 kuukauden ikäisiltä vauvoilta, ja 10 vuoden iässä tutkittavilta selvitettiin se, ketkä olivat saaneet ADHD-diagnoosin tai vastaavasti jonkin muun neurokehityksellisen häiriön diagnoosin. Erityisesti 6 kuukauden iässä otetuissa ulostenäytteissä havaittiin suolistomikrobiston eroja ADHD-diagnoosin saaneiden ja verrokkien välillä, ja nämä erot näkyivät erityisesti vähäisempänä maitohappobakteerien, kuten *Enterococcaceae*-heimon määränä ADHD-diagnoosin saaneilla.

Aiemmin esitellyt tutkimukset ovat kohdistuneet ihmisiin, joilla on diagnosoitu ADHD. Tutkimusta tarvitaan kuitenkin myös liittyen ADHD-tyyppisiin piirteisiin, sillä ADHD:seen liittyvät oireet eivät aina täytä ADHD:n diagnostisia kriteereitä, vaan niitä on usein nähtävissä lievempinä myös normaaliväestössä. Ou ja kumppanit (2022; 2024) tutkivat vauvaiän ja lapsuuden suolistomikrobiston yhteyttä käyttäytymiseen 10 vuoden iässä sekä murrosiän suolistomikrobiston yhteyttä käyttäytymiseen 14 vuoden iässä. *Prevotella 9* -suvun bakteerien suhteellinen runsaus lapsuudessa, eli 6 ja 10 vuoden iässä, oli yhteydessä eksternalisoiviin oireisiin eli impulsiivisuuteen, aggressiivisuuteen ja hyperaktiivisuuteen 10-vuotiaana. Vastaavia yhteyksiä ei löydetty vauvaiässä, eli 1, 3 ja 4 kuukauden iässä otettujen näytteiden mikrobistolle ja lapsuuden käytökselle. Murrosiässä eli 12 ja 14 vuoden iässä otettujen ulostenäytteiden kohdalla *Prevotella 9* -suvun bakteerien suhteellinen runsaus oli niin ikään yhteydessä eksternalisoivaan käytökseen 14 vuoden iässä. Murrosiässä otetuista näytteistä, joissa *Prevotella 9* -suvun esiintyvyys oli runsasta, 67 % oli pojilta.

Konsensusta siitä, onko ihmisten, joilla on ADHD ja terveiden verrokkien suolistomikrobistojen monimuotoisuudessa tai koostumuksessa eroja, ei ole saavutettu. Myöskään siitä, mitkä bakteerit korreloivat ADHD:n kanssa eniten, ei ole saatu johdonmukaisia tuloksia, ja tulokset ovat olleet jopa keskenään ristiriitaisia. Koska vauvaikä ja varhaislapsuus ovat neurokehityksen ja mikrobiston kehityksen kannalta tärkeää aikaa, tarvitaan lisää tutkimusta erityisesti tästä ikäkaudesta. ADHD-piirteet ilmenevät usein jo varhain lapsuudessa, vaikka mahdollista diagnoosia ei olisi vielä tutkittu ja asetettu. Tämän vuoksi on tärkeää tutkia ADHD:ta myös piirretasolla. Koska diagnoosit sekä ADHD-oireilu ovat lisääntyneet väestössä, ja ADHD-oireet kuormittavat merkittävästi yksilön elämää, on tutkimus aiheesta erityisen tärkeää.

1.5. Tutkimuskysymykset ja hypoteesit

Tämän tutkimuksen tavoitteena on tarkastella, onko yksivuotiaan suolistomikrobistolla yhteyksiä vanhemman arvioimiin lapsen ADHD-piirteisiin normaalipopulaatiossa. Tutkimuskysymyksemme ovat seuraavat:

1. Onko suolistomikrobiston monimuotoisuus 12 kuukauden iässä yhteydessä vanhemman arvioimiin lapsen ADHD-piirteisiin 4–6 vuoden iässä?

2. Onko suolistomikrobiston koostumus 12 kuukauden iässä yhteydessä vanhemman arvioimiin lapsen ADHD-piirteisiin 4–6 vuoden iässä?
3. Onko suolistomikrobiston ja vanhemman arvioimien lapsen ADHD-piirteiden välinen yhteys erilainen tyttöjen ja poikien välillä?

Monimuotoisuutta mittaavassa alfadiversiteetissä on havaittu monissa tutkimuksissa olevan eroja ADHD-diagnoosin saaneiden ja verrokkien välillä (Cassidy-Bushrow ym., 2023; Prehn-Kristensen ym. 2018; Wang ym., 2020). Nämä aiemmat tutkimustulokset ovat kuitenkin ristiriitaisia sen suhteen, onko ADHD yhteydessä suurempaan vai pienempään alfadiversiteettiin. Myös suolistomikrobiston koostumuksessa on havaittu eroja ADHD-diagnoosin saaneiden tutkittavien välillä verrokkeihin verrattuna (esim. Aarts ym., 2017; Jiang ym., 2018; Wan ym., 2020). Lisäksi piirretason tutkimuksissa, joissa tutkittavilla ei ole ADHD-diagnoosia, on ADHD-piirteiden havaittu olevan yhteydessä suolistomikrobiston koostumukseen (Ou ym., 2022; 2024). Tämänkään kysymyksen osalta tulokset eivät ole yhteneviä sen suhteen, miten mikrobiston koostumus vaikuttaa ADHD:seen. Sukupuolella on havaittu eroja niin suolistomikrobistossa kuin myös ADHD-oireilussa (Dominianni ym., 2015; Gershon, 2002), mutta sukupuolen yhteisvaikutusta ei tietääksemme ole aiemmin huomioitu suolistomikrobiston ja ADHD:n yhteyttä tarkastelevissa tutkimuksissa. Koska aiemmat tutkimustulokset eivät ole yhteneviä, emme aseta hypoteeseja tutkimuskysymyksillemme.

2. MENETELMÄT

2.1. Aineisto ja tutkittavat

Tutkimusaineistomme on osa HELMi-kohorttia (Health and Early Life Microbiota), joka koostuu vuosina 2016–2018 pääkaupunkiseudulla syntyneistä lapsista. HELMi-kohortti on pitkittäisaineisto, jonka tavoitteena on kartoittaa geneettisiä sekä ympäristöllisiä tekijöitä, jotka vaikuttavat suolistomikrobiston kehitykseen ensimmäisinä elinvuosina. Koko kohortti koostuu 1055 perheestä. Kohorttia varten raskaana olevia naisia rekrytoitiin äitiysneuvoloissa sekä sosiaalisen median mainoksilla. Aineistoon otettiin mukaan raskausviikoilla 37–42 syntyneet vauvat, joilla ei ollut synnynnäisiä sairauksia. Lasten vanhemmilta kerättiin kirjallinen suostumus tutkimukseen

osallistumisesta. Tutkimus hyväksyttiin Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin eettisessä toimikunnassa (263/13/03/03 2015).

Kohortin lapsilta kerättiin ulostenäytteet kymmenenä ajankohtana; 3, 6, 9, ja 12 viikon iässä, 6, 9, 12, 18 ja 24 kuukauden iässä sekä kerran 4–6 vuoden iässä. Vanhemmilta kerättiin online-kyselyillä säännöllisin väliajoin tietoa ympäristötekijöistä sekä lasten terveydestä. Äideiltä kerättiin taustatiedot muun muassa koulutuksesta ja raskaudenaikaisista terveydellisistä tekijöistä. Kokonaisuudessaan aineisto sisältää laajasti tietoa lasten motorisista, kognitiivisista ja sosiaalisista taidoista, joita on mitattu kyselyillä eri ikävaiheissa. Analyyseihin sisällytetyt taustamuuttujat valitsimme aiemman tutkimustiedon sekä muuttujien välisten yhteyksien alustavan tarkastelun perusteella. Kohortin tarkemmat tiedot ja aineiston keruu on kuvattu Korpelan ja kumppaneiden artikkelissa (2019).

Aineistosta poistettiin ne lapset, joilla havaittiin jokin pitkäaikaisdiagnoosi. Tähän ryhmään kuuluivat ne, joilla oli sydänoireita, ihon liittyviä poikkeamia tai kasvaimia, hermostohäiriö, epilepsia, neutropenia, anemia, suoliston tai munuaisten poikkeava rakenne tai toiminta, perinnöllinen sairaus, muita rakenteellisia poikkeamia, vakava tartuntatauti tai allergioita.

Vanhempien täyttämistä sosioemotionaalista kehitystä mittaavista kyselyistä käytämme tässä tutkimuksessa yhtä ADHD-piirteitä mittaavaa kyselyä. ADHD-piirrekyselyyn vastasi 367 perhettä lapsen ollessa 4–6-vuotias. Meidän tutkimuksemme otos koostuu 278 lapsesta, joilta oli saatavilla sekä ulostenäyte että heidän vanhempiensa täyttämä ADHD-piirrekysely.

2.2. Menetelmät ja muuttujat

2.2.1. Lasten ADHD-piirteet

ADHD-piirteitä mitattiin tutkimuksessa Conners-10-kyselyn suomenkielisellä versiolla lasten ollessa 48–73 kuukauden ikäisiä. Kysely ei ole varsinainen ADHD:n diagnosoinnissa käytettävä menetelmä, vaan se mittaa erilaisia käyttäytymisen haasteita, kuten impulsiivisuutta (Westerlund ym., 2009). Kysely koostuu kymmenestä väitteestä (esim. ”lapsi on tarkkaamaton ja häiriintyy helposti”, ”lapsi saa raivonpuuskia ja kiukkukohtauksia”), jotka lapsen vanhempi arvioi neliportaisella asteikolla välillä 0–3 (0 = ei yhtään totta, 3 = hyvin totta; Westerlund ym., 2009). Tässä tutkimuksessa asteikon

pisteet vaihtelivat 1–4 välillä. Mittarin kysymykset voidaan jakaa kahteen faktoriin, levottomaan ja impulsiiviseen käyttäytymiseen sekä tunteiden epävakaisuuteen (Westerlund ym., 2009). Käytimme tässä tutkimuksessa kyselyn kokonaispistemäärää sekä näiden kahden alaluokan, levottoman ja impulsiivisen käyttäytymisen sekä tunteiden epävakaisuuden pistemääriä. Kokonaiskyselyn reliabiliteetti oli hyvä (α = 0,84). Levottoman ja impulsiivisen sekä tunteiden epävakaisuuden reliabiliteetit olivat niin ikään hyviä (α = 0,79, α = 0,73).

ADHD-kyselyn kokonaispistemäärän lisäksi muodostimme kahdesta alaluokasta summamuuttujat laskemalla yhteen kunkin osion pistemäärät. Muodostimme ADHD-piirteiden kokonaispisteistä sekä alafaktoreiden pisteistä kaksiluokkaiset kategoriset muuttujat jakamalla kunkin mataliin ja korkeisiin pisteisiin. Tutkittavista korkeiden pisteiden ryhmään kussakin ADHD-muuttujassa kuuluivat ne, joiden pisteet kuuluivat korkeimpaan kvintiiliin eli korkeimpaan 20 prosenttiin.

2.2.2. Mikrobinäytteiden keräys ja esikäsittely

Suolistomikrobiston koostumusta ja monipuolisuutta tutkittiin 12 kuukauden iässä kerätyillä ulostenäytteillä, jotka lasten vanhemmat ovat keränneet itse kotona. Näytteet on kotona pyydetty säilyttämään pakastimessa -20 asteessa, ja laboratorioon toimittamisen jälkeen ne on säilytetty -80 asteessa.

DNA:n eristäminen näytteistä tehtiin bead-beating-menetelmällä, joka perustuu toistuvaan helmien kanssa tehtyyn näytteen hajotukseen (Salonen ym., 2010). Sekvensointikirjasto luotiin Luukkosen ja kumppaneiden (2018) mukaan. 16s rRNA geenin V3-V4 alueen monistaminen (alukkeet 341F/785R) tehtiin Illumina-manuaalin mukaisesti pienin muutoksin (Raju ym., 2018). Sekvensointi toteutettiin Helsingin yliopiston toiminnallisen genomiikan yksikössä ja Suomen molekyylilääketieteen instituutissa käyttäen HiSeq- ja MiSeq-teknologioita. DNA:n eristäminen ja sekvensointikirjaston luominen on kuvattu tarkemmin Jokelan ja kumppaneiden (2023) artikkelissa.

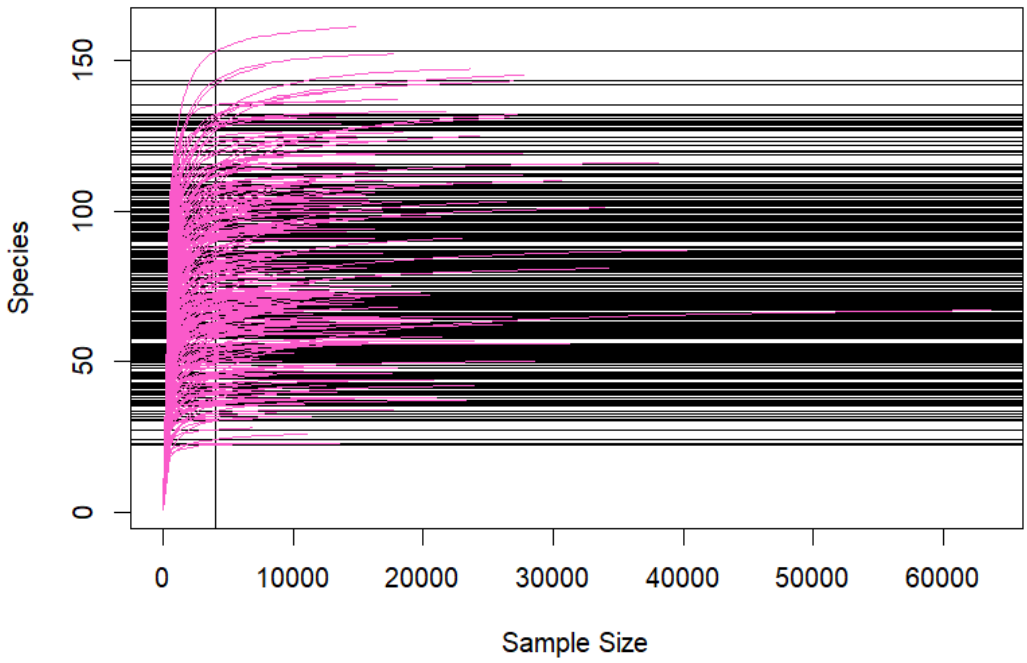
2.2.3. Sekvenssiaineiston esikäsittely

Joissain mikrobinäytteissä havaittiin *Akkermansia*-kontaminaatio. Ne näytteet, joissa oli enemmän kuin 20 prosenttia *Akkermansia*-suvun bakteereja, poistettiin analyyseista. Näytteet, joissa enemmän kuin 20 prosenttia bakteereista oli sukutasolla tuntemattomia, poistettiin otoksesta. Myös ne bakteerit, joiden suhteellinen osuus oli vähemmän kuin 0,1 prosenttia, ja joita oli vähemmässä kuin 10 näytteessä, poistettiin.

Kaksisuuntaiset sekvenssijuosteet suodatettiin sekvensointilaadun perusteella ja yhdistettiin toisiinsa käyttäen R-pakettia *dada2* (Callahan ym., 2016). Juosteen alkupäästä poistettiin huonolaatuiset emäsparit ja sekvenssien minimipituudeksi asetettiin 240 emäsparia. Lisäksi sekvenssit, joissa oli enemmän kuin 2 oletettua virhettä (EE), poistettiin. Taksonominen annotaatio tehtiin vertaamalla sekvenssejä SILVA v138 -tietokantaan (Quast ym., 2013).

Datan esikäsittelyn jälkeen aineistossa oli 3 426 240 sekvenssiä yhteensä 278 näytteestä (*ka* = 12 325 sekvenssiä/näyte, Md = 10 389, min = 4005, max = 63 626). Alfadiversiteetin määrittämistä varten sekvensointisyvyyden eroja pyrittiin vähentämään tekemällä datan harventaminen (even subsampling). Kustakin näytteestä otettiin tasasuuri satunnaisotanta pienimmän näytteen näytesyvyyteen (4005 sekvenssiä), ja sekvensointisyvyyden riittävyys varmistettiin kuvaajan avulla (kuvio 1).

Kuvio 1. Lajien lukumäärä suhteessa näytteen sekvenssien lukumäärään



Huom. Viiva merkitsee 4000 sekvenssin lukumäärää.

2.2.4. Mikrobiaineiston analysointi

Mikrobiaineiston käsittelyssä käytettiin R ohjelmistoa (versio 4.4.2; R Core Team, 2024) ja mikrobiomianalyyseihin kehitettyjä *phyloseq*- (McMurdie & Holmes, 2013) ja *microbiome*-paketteja (Lahti & Shetty, 2017). Mikrobinäytteiden alfadiversiteettiä tutkimme käyttäen Shannon-indeksiä (Shannon, 1948):

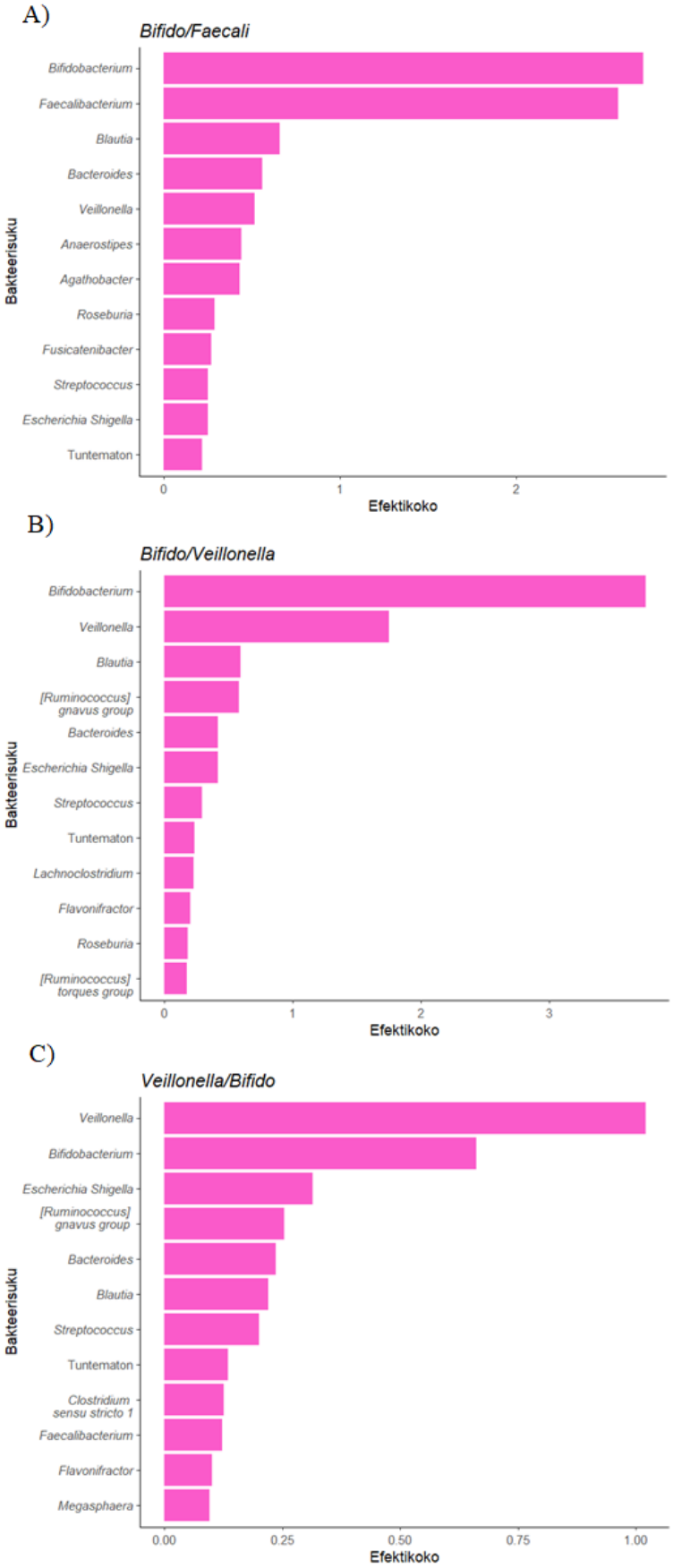
$$H' = -\sum_{i=1}^{s} \left(\frac{q_i}{Q}\right) ln \left(\frac{q_i}{Q}\right),$$

jossa S on taksonien lukumäärä populaatiossa, q_i on i:nnen taksonin määrä ja Q on populaation yksilöiden kokonaislukumäärä.

Betadiversiteettiä tutkimme käyttäen Aitchisonin etäisyyttä, ja visualisoimme sitä PCoA:n (Principal Coordinate Analysis) eli pääkoordinaattianalyysin avulla.

Kunkin lapsen mikrobistotyyppi määritettiin jakamalla mikrobinäytteet klustereihin bakteeriprofiilien perusteella käyttäen Dirichlet Multinomial Mixtures -menetelmää, joka sisältyy *DirichletMultinomial*-r-pakettiin (M. Morgan, 2024). Klustereihin on laskettu mukaan ne bakteerisuvut, joiden esiintyvyys on vähintään 0,1 prosenttia 5 prosentissa näytteistä. Analyysiemme perusteella päädyimme jakamaan mikrobinäytteet kolmeen klusteriin, jotka saivat nimet *Bifido/Faecali*, *Bifido/Veillonella* ja *Veillonella/Bifido* mikrobikoostumustensa perusteella (kuvio 2). *Bifido/Faecali*-klusteri oli klustereista suurin (taulukko 1). Sukupuolet jakautuivat klustereihin tasaisesti.

Kuvio 2. Mikrobiklustereihin eniten vaikuttaneet bakteerisuvut



Taulukko 1. Näytteiden jakautuminen klustereihin

Klusteri	*N* (%)	Tytöt, n (%)	Pojat, n (%)	Conners-kokonaispisteet, *N* (%)		Levottomuus ja impulsiivisuus, *N* (%)		Tunteiden epävakaisuus, *N* (%)	
				Matala	Korkea	Matala	Korkea	Matala	Korkea
Bifido/Faecali	122 (43,9)	54 (44,3)	68 (55,7)	107 (87,7)	15 (12,3)	106 (86,9)	16 (13,1)	106 (86,9)	16 (13,1)
Bifido/Veillonella	81 (29,1)	42 (51,9)	39 (48,1)	65 (80,2)	16 (19,8)	65 (80,2)	16 (19,8)	64 (79,0)	17 (21,0)
Veillonella/Bifido	75 (27,0)	39 (52,0)	36 (48,0)	60 (80,0)	15 (20,0)	60 (80,0)	15 (20,0)	59 (78,7)	16 (21,3)

2.2.5. Taustamuuttujat

Tutkimuksen tilastollisiin analyyseihin sisällytettävien taustamuuttujien valintaa varten tarkastelimme lukuisten lapsen syntymään, kehitykseen, ruokintaan sekä vanhempiin ja mikrobiaineiston käsittelyyn liittyvien taustamuuttujien yhteyksiä alfadiversiteettiin ja ADHD-muuttujiin Pearsonin korrelaatiolla, Wilcoxonin järjestyssummatestillä (Wilcoxon, 1945) ja Kruskal-Wallis-testillä (Kruskal & Wallis, 1952) sekä betadiversiteettiin PERMANOVA-analyysilla. Korrelaatioihin, Wilcoxonin järjestyssummatestiin ja Kruskal-Wallis-testiin käytimme pakettia *stats* (R Core Team, 2024) ja betadiversiteetin laskemiseen sekä PERMANOVA-analyysiin pakettia *vegan* (Oksanen ym., 2024). Taustamuuttujien analyyseille suoritimme monitestauskorjauksen (False Discovery Rate; FDR), ja tulkitsimme FDR-arvoista merkitseviksi ne, jotka olivat alle 0,250.

Valitsimme tutkimukseen taustamuuttujat, jotka olivat yhteydessä alfa- tai betadiversiteettiin tai ADHD-piirremuuttujiin, tai jotka katsoimme tärkeiksi aiemman tutkimustiedon perusteella. Tutkimukseen valittuja taustamuuttujia olivat sukupuoli, synnytystapa, ruokintatapa 12 viikon iässä, äidin koulutustaso sekä mikrobinäytteiden teknisen käsittelyn kannalta keskeinen sekvenssiajon numero. Sukupuoli oli kaksiluokkainen muuttuja, jonka vaihtoehdot olivat tyttö ja poika. Synnytystapaan vaihtoehtoisia vastauksia olivat alatiesynnytys ja sektio. Ruokintatapa 12 viikon iässä jaettiin neljään luokkaan: rintaruokinta, äidinmaidonkorvike ja sekaruokinta, eli lasta ruokittiin sekä rintaruokinnalla että äidinmaidonkorvikkeella, sekä neljäs luokka, johon asettuivat lapset, joilta tietoa ruokintatavasta ei ollut saatavilla. Äidin koulutustaso jaettiin kolmeen luokkaan, jotka olivat

ammattikoulu, lukio tai alempi, ammattikorkeakoulu sekä yliopisto. Sekvenssiajon numero jakautui kahdeksaan luokkaan.

2.3. Tilastolliset analyysit

Tilastolliset analyysit toteutettiin R-ohjelmiston versiolla 4.4.2 (R Core Team, 2024). Analysoimme alfadiversiteetin vaikutusta ADHD-piirrekyselyn pistemääriin muodostamalla logistiset regressiomallit kyselyn kokonaispisteille sekä kahdelle alaluokalle. Tarkastelimme aluksi regressiomalleilla pelkästään alfadiversiteetin ja ADHD-piirteiden välisiä yhteyksiä, ja tämän jälkeen niin, että kontrolloimme taustamuuttujat, eli sukupuolen, synnytystavan, ruokintatavan 12 viikon iässä, äidin koulutustason sekä sekvenssiajon numeron mallissa. Seuraavaksi teimme mallit, joissa tarkastelimme sitä, onko sukupuolella ja alfadiversiteetillä interaktiovaikutusta ADHD-piirteisiin. Myös näiden mallien kohdalla tutkimme yhteyksiä aluksi ilman taustamuuttujien kontrollointia, ja tämän jälkeen malleilla, jossa taustamuuttujat kontrolloitiin.

ADHD-piirteiden ja mikrobikoostumuksen välistä yhteyttä tutkimme aluksi PERMANOVA-analyysilla selitettävänä muuttujana Aitchisonin etäisyys ja selittävinä muuttujina ADHD-piirteet.

Seuraavaksi tarkastelimme ADHD-piirteiden ja mikrobiklusterien välistä yhteyttä. Analyyseja varten muodostimme määritetyistä mikrobiprofiiliklustereista dummy-muuttujat. Valitsimme *Bifido/Faecali*-klusterin perustasoksi, johon muita klustereita verrattiin, sillä se oli klustereista suurin ja sisälsi suhteellisesti eniten matalat pisteet saaneita lapsia jokaisessa ADHD-piirteessä (taulukko 1). Tarkastelimme logistisella regressiolla, miten mikrobiklusterit eroavat ADHD-piirteiden osalta. Tutkimme yhteyttä aluksi yksinkertaisilla malleilla ilman taustamuuttujia, ja tämän jälkeen malleilla, joissa taustamuuttujat kontrolloitiin. Seuraavaksi teimme regressiomallit, joilla tarkastelimme sukupuolen ja mikrobiklustereiden interaktiovaikutusta ADHD-piirteisiin. Tutkimme yhteyksiä aluksi ilman taustamuuttujien kontrollointia, ja tämän jälkeen malleilla, jossa taustamuuttujat kontrolloitiin.

Lopuksi tutkimme yksittäisten bakteerisukujen vaikutuksia ADHD-piirteisiin MaAsLin2-menetelmällä (Microbiome Multivariable Association with Linear Models), johon hyödynsimme r-pakettia *MaAsLin2* (Mallick ym., 2021). Teimme ADHD-piirteille ensin yksinkertaiset mallit ilman taustamuuttujia ja sitten mallit, joissa taustamuuttujat kontrolloitiin. Sen jälkeen teimme yksinkertaiset ja taustamuuttujat sisältävät mallit erikseen eri sukupuolille bakteerikoostumuksen ja ADHD:n välisissä yhteyksissä esiintyvien sukupuolten välisten erojen tutkimista varten. Kaikille

malleille teimme monitestauskorjauksen. Merkitseviksi tulkitsimme FDR-arvot, jotka olivat alle 0,250.

3. TULOKSET

3.1. Kuvailevat tulokset

Otoksen sukupuolijakauma oli tasainen, kun taas muiden taustamuuttujien osalta aineistossa oli enemmän vaihtelua (taulukko 2). ADHD-piirteissä korkeiden pisteiden ryhmiin kuuluvista lapsista suurin osa oli poikia (taulukko 3).

Taulukko 2. Osallistujien ominaisuudet ja taustatiedot

Muuttuja	*N* (%)
Sukupuoli	
Tyttö	135 (48,6)
Poika	143 (51,4)
Synnytystapa	
Sektio	48 (17,3)
Alatiesynnytys	230 (82,7)
Ruokintatapa 12 vk	
Rintaruokinta	182 (65,5)
Äidinmaidonkorvike	1 (0,4)
Sekaruokinta	94 (33,8)
Ei määritelty	13 (4,7)
Äidin koulutustaso	
Ammattikoulu, lukio tai alempi	26 (9,4)
Ammattikorkeakoulu	85 (30,6)
Yliopisto	167 (60,1)

Taulukko 3. ADHD-piirremuuttujien ominaisuudet

Muuttuja	*N* (%) / ka *(kh)*	tytöt, *n* (%)	pojat, *n* (%)	vaihteluväli
Lapsen ikä Conners-kyselyn täytön aikaan (kk)	57,2 (5,3)			48–73
Conners-kokonaispisteet	18,4 (4,6)			10–39
Matalat pisteet	232 (83,5)	120 (51,7)	112 (48,3)	
Korkeat pisteet	46 (16,5)	15 (32,6)	31 (67,4)	
Levottomuus ja impulsiivisuus	10,8 (3,0)			6–23
Matalat pisteet	231 (83,1)	121 (52,4)	110 (47,6)	
Korkeat pisteet	47 (16,9)	14 (29,8)	33 (70,2)	
Tunteiden epävakaisuus	7,6 (2,2)			4–16
Matalat pisteet	229 (82,4)	113 (49,3)	116 (50,7)	
Korkeat pisteet	49 (17,6)	22 (44,9)	27 (55,1)	

Shannon-indeksin keskiarvo aineistossa oli 3,1 (*kh*: 0,6, vaihteluväli 1,4–4,2).

Taulukoissa 4, 5 ja 6 on esitetty taustamuuttujat, jotka olivat tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä joko alfa- tai betadiversiteettiin tai ADHD-muuttujiin. Sukupuoli oli merkitsevästi yhteydessä levottomuuteen ja impulsiivisuuteen (FDR < 0,250) ja ennen monitestauskorjausta piirrekyselyn kokonaispistemäärään (p = 0,030, FDR = 0,536). Synnytystapa oli yhteydessä betadiversiteettiin (FDR < 0,250). Äidin koulutus oli merkitsevästi yhteydessä alfadiversiteettiin ennen monitestauskorjausta (p = 0,040, FDR = 0,280). Sekvenssiajon numero oli yhteydessä alfa- ja betadiversiteetteihin (FDR < 0,01).

Taulukko 4. Kaksiluokkaisten taustamuuttujien yhteydet alfadiversiteettiin ja ADHD-piirremuuttujiin

Taustamuuttuja	Alfadiversiteetti			Conners-kokonaispistemäärä			Levottomuus ja impulsiivisuus			Tunteiden epävakaisuus		
	p	FDR	W	*p*	FDR	W	*p*	FDR	W	*p*	FDR	W
Sukupuoli	0,879	0,977	9550	0,030	0,536	11100	0,005	0,128	11539	0,366	0,640	10252
Synnytystapa	0,060	0,280	4567	0,931	0,948	5564,5	0,916	0,950	5573,5	0,989	0,994	5527,5

Taulukko 5. Moniluokkaisten taustamuuttujien yhteydet alfadiversiteettiin ja ADHD-piirremuuttujiin

Taustamuuttuja	Alfadiversiteetti			Conners-kokonaispistemäärä			Levottomuus ja impulsiivisuus			Tunteiden epävakaisuus		
	p	FDR	χ^2	*p*	FDR	χ^2	*p*	FDR	χ^2	*p*	FDR	χ^2
Ruokintatapa 12vk	0,907	0,977	0,555	0,150	0,536	5,317	0,296	0,722	3,6983	0,057	0,458	7,5108
Äidin koulutus	0,040	0,277	6,4613	0,948	0,948	0,106	0,8375	0,908	0,3547	0,827	0,994	0,3805
Sekvenssiajon numero	0,000	0,000	95,439	0,862	0,926	3,236	0,843	0,908	3,4231	0,923	0,994	2,550

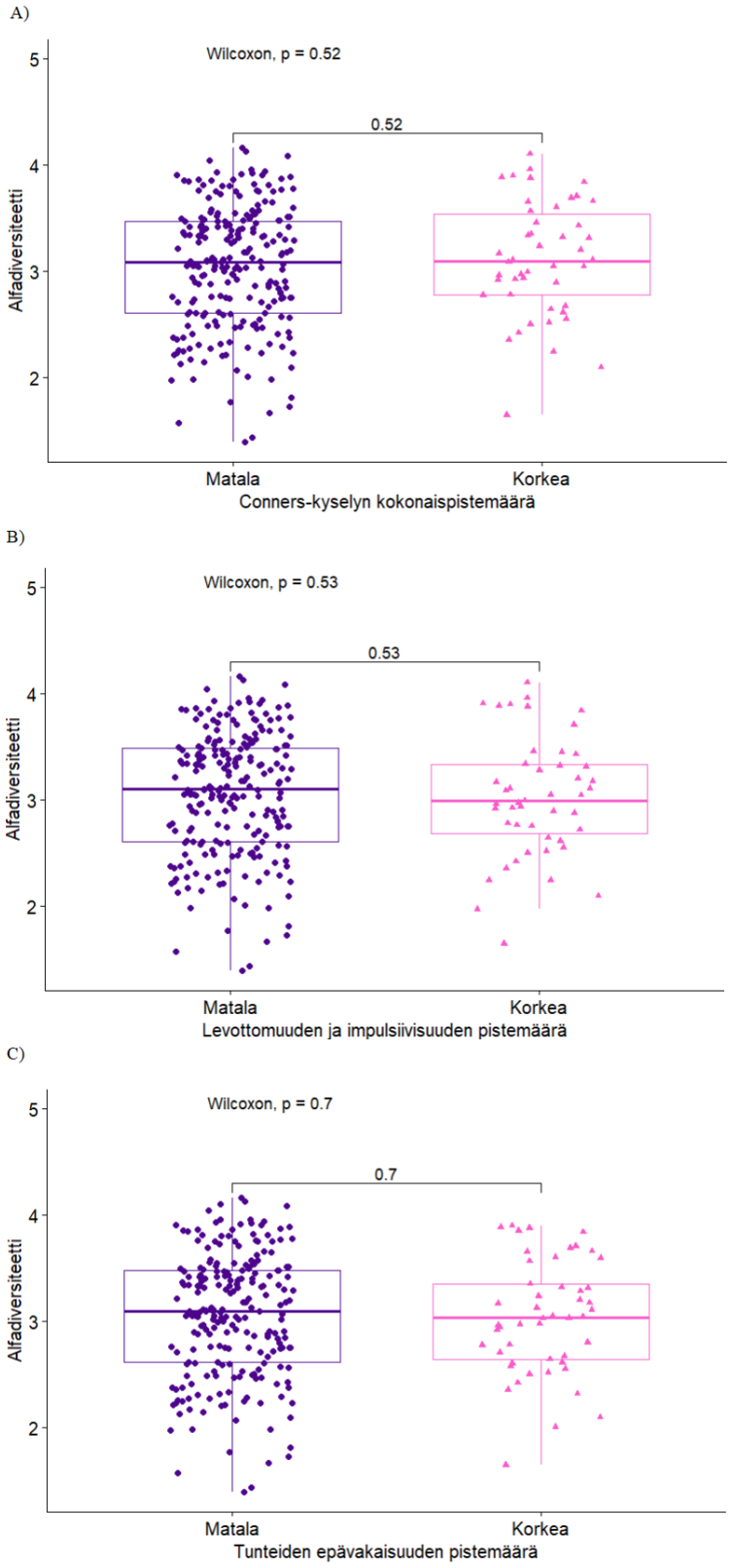
Taulukko 6. Taustamuuttujien yhteydet betadiversiteettiin

Taustamuuttuja	Betadiversiteetti		
	p	FDR	R^2
Sukupuoli	0,303	0,606	0,004
Synnytystapa	0,002	0,012	0,009
Ruokintatapa 12vk	0,840	0,869	0,009
Äidin koulutus	0,209	0,476	0,008
Sekvenssiajon numero	0,001	0,008	95,439

3.2. Suolistomikrobiston monimuotoisuus ja ADHD-piirteet

Suolistomikrobiston monimuotoisuudessa ei ollut eroa ADHD-piirteissä matalat ja korkeat pisteet saaneiden lasten välillä (kuvio 3). Alfadiversiteetti ei ollut yhteydessä siihen, saiko tutkittava matalat vai korkeat pisteet ADHD-piirteistä ilman taustamuuttujien vaikutusta tai taustamuuttujat kontrolloituina ($p > 0,1$; taulukko 7). Sukupuolella ja alfadiversiteetillä ei ollut interaktiovaikutusta siihen, saiko tutkittava matalat vai korkeat pisteet ADHD-piirteistä yksinkertaisissa malleissa tai taustamuuttujat kontrolloituina ($p > 0,05$; taulukko 7).

Kuvio 3. Alfadiversiteetit pisteryhmittäin ADHD-piirteissä



Huom. Alfadiversiteettien vertailu pisteryhmittäin A) piirrekyselyn kokonaispistemäärässä; B) levottomuudessa ja impulsiivisuudessa; C) tunteiden epävakaisuudessa.

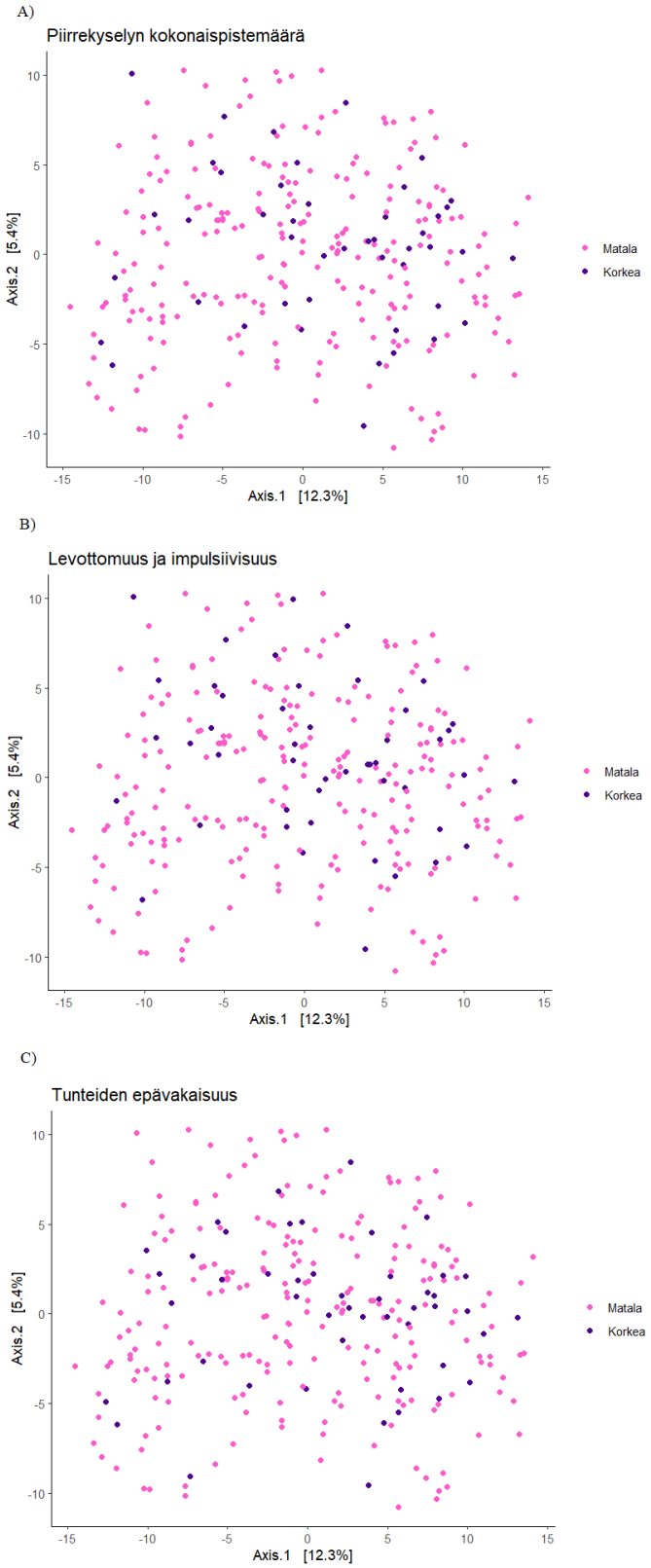
Taulukko 7. Alfadiversiteetin yhteys ADHD-piirremuuttujiin

	Conners-kokonaispisteet		Levottomuus ja impulsiivisuus		Tunteiden epävakaisuus	
	β	*p*	β	*p*	β	*p*
Yksinkertaiset mallit:						
Alfadiversiteetti	0,2244	0,437	-0,1063	0,703	-0,0646	0,814
Taustamuuttujat kontrolloituna:						
Alfadiversiteetti	0,0474	0,896	-0,3441	0,331	0,0765	0,826
Sukupuoli-interaktiot						
Yksinkertaiset mallit:						
Alfadiversiteetti	-0,4174	0,494	-0,1215	0,841	-1,0013	0,073
Taustamuuttujat kontrolloituna:						
Alfadiversiteetti	-0,2571	0,689	-0,0202	0,975	-1,0801	0,076

3.3. Suolistomikrobiston koostumus ja ADHD-piirteet

Tunteiden epävakaisuuden alapiirteessä matalat ja korkeat pisteet saaneiden lasten suolistomikrobiston koostumukset (betadiversiteetti) erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi (R^2 = 0,005, p = 0,043; kuvio 4). Mikrobikoostumuksessa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien välillä kokonaispistemäärän suhteen (R^2 = 0,0047, p = 0,103) eikä levottomuuden ja impulsiivisuuden alapiirteessä (R^2 = 0,0036, p = 0,43).

Kuvio 4. Betadiversiteetit pisteryhmittäin ADHD-piirteissä



Huom. PCoA-kuvaaja mallintaa eroja näytteiden betadiversiteeteissä pisteryhmittäin kussakin ADHD-piirremuuttujassa. Betadiversiteetit on esitetty pisteryhmittäin A) piirrekyselyn kokonaispistemäärässä; B) levottomuudessa ja impulsiivisuudessa; C) tunteiden epävakaisuudessa.

Bifido/Veillonella- tai *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen ei ollut yhteydessä siihen, saiko tutkittava matalat vai korkeat pisteet ADHD-piirteissä yksinkertaisissa tai taustamuuttujat kontrolloivissa regressiomalleissa, kun vertailukohtana oli *Bifido/Faecali*-klusteriin kuuluminen ($p >$ 0,1; taulukko 8).

Sukupuolella ja *Veillonella/Bifido*-klusterilla oli merkitsevä interaktiovaikutus tunteiden epävakaisuuteen taustamuuttujat kontrolloivassa mallissa (β = -1,7566, p = 0,037), kun vertailukohtana oli *Bifido/Faecali*-klusteri. Pojilla *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen oli *Bifido/Faecali*-klusteriin verrattuna merkitsevästi yhteydessä tunteiden epävakaisuuden pistemäärän suuruuteen ilman taustamuuttujia (β = 1,1939, p = 0,022) ja taustamuuttujat kontrolloituina (β = 1,3382, p = 0,018). Tytöillä vastaavaa yhteyttä ei ollut taustamuuttujat kontrolloituina (β = -0,5521, p = 0,404) tai ilman (β = -0,1677, p = 0,784).

Sukupuolella ja *Veillonella/Bifido*- tai *Bifido/Veillonella*-klusterilla ei ollut *Bifido/Faecali*-klusteriin verrattuna merkitsevää interaktiovaikutusta ADHD-kokonaispisteiden tai levottomuuden ja impulsiivisuuden pisteiden suuruuteen yksinkertaisissa malleissa tai taustamuuttujat kontrolloituina ($p >$ 0,1; taulukko 8).

Taulukko 8. Klusterien yhteydet ADHD-piirremuuttujiin

	Conners-kokonaispisteet		Levottomuus ja impulsiivisuus		Tunteiden epävakaisuus	
	β	*p*	β	*p*	β	*p*
Yksinkertaiset mallit:						
Bifido/Veillonella [a]	0,5630	0,151	0,4891	0,206	0,5652	0,143
Veillonella/Bifido [a]	0,5785	0,147	0,5046	0,200	0,5859	0,132
Taustamuuttujat kontrolloituna:						
Bifido/Veillonella [a]	0,6915	0,104	0,5557	0,186	0,5716	0,168
Veillonella/Bifido [a]	0,6987	0,100	0,6136	0,145	0,6663	0,110
Sukupuoli-interaktiot						
Yksinkertaiset mallit:						
Bifido/Veillonella [a]	0,1535	0,855	0,2582	0,758	-0,2104	0,785
Veillonella/Bifido [a]	-0,0808	0,925	-0,3628	0,681	-1,3616	0,091
Taustamuuttujat kontrolloituna:						
Bifido/Veillonella [a]	-0,2033	0,822	-0,1507	0,867	-0,7327	0,380
Veillonella/Bifido [a]	-0,1331	0,881	-0,3346	0,713	-1,7566	0,037

[a] Klusterin vertailukohtana on *Bifido/Faecali*-klusteri.

Koko otoksessa Conners-kyselyn kokonaispisteiden osalta matalat pisteet saaneilla esiintyi enemmän *Anaerostipes*-suvun bakteereja (p = 0,032, FDR = 0,221) ja korkeat pisteet saaneilla enemmän yhtä bakteerisukua, joka jäi tuntemattomaksi (p = 0,031, FDR = 0,221). ADHD-alapiirteiden osalta merkitseviä eroja yksittäisten bakteerisukujen esiintyvyydessä ei ollut. Taustamuuttujat kontrolloituna merkitseviä eroja yksittäisten bakteerisukujen esiintyvyydessä ei ollut suhteessa pistemääriin Conners-kyselyn kokonaispisteissä tai kummassakaan alapiirteessä.

Sukupuolittain tarkasteltuna levottomassa ja impulsiivisessa käyttäytymisessä korkeat pisteet saaneilla tytöillä esiintyi matalat pisteet saaneita enemmän *Escherichia/Shigella* -suvun bakteereja (p = 0,010, FDR = 0,137). Lisäksi tunteiden epävakaisuuden alapiirteessä matalat pisteet saaneilla pojilla oli korkeat pisteet saaneita enemmän *Agathobacter*-suvun bakteereja (p = 0,010, FDR = 0,139). Nämä yhteydet eivät olleet merkitseviä, kun taustamuuttujat kontrolloitiin ($p > 0,1$). Conners-kyselyn kokonaispisteiden osalta matalat ja korkeat pisteet saaneiden välillä yksittäisten

bakteerisukujen esiintyvyydessä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa tytöillä eikä pojilla. Myöskään levottoman ja impulsiivisen käyttäytymisen suhteen pojilla tai tunteiden epävakaisuuden suhteen tytöillä ei ollut merkitseviä eroja bakteerisukujen esiintyvyydessä ryhmien välillä.

4. POHDINTA

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia yksivuotiaan lapsen suolistomikrobiston yhteyttä vanhemman arvioimiin ADHD-piirteisiin leikki-iässä. Tutkimme suolistomikrobiston monimuotoisuuden ja koostumuksen yhteyksiä lapsen ADHD-piirteisiin sekä mahdollisia sukupuolten välisiä eroja näissä yhteyksissä. Emme asettaneet tutkimukselle hypoteeseja aiempien tutkimustulosten ristiriitaisuuden vuoksi niin suolistomikrobiston monimuotoisuuden kuin koostumuksenkin osalta. Ristiriitaisuuden lisäksi aiempaa tutkimusta diagnosoimattomien ADHD-piirteiden yhteyksistä suolistomikrobistoon on tehty vain vähän. Kiinnostuksen kohteenamme oli siis selvittää, onko suoliston mikrobisto yksi varhaisten ADHD-piirteiden taustalla vaikuttava tekijä.

Havaitsimme tässä tutkimuksessa eroja siinä, miten suolistomikrobisto on yhteydessä erilaisiin ADHD-piirteisiin. Suolistomikrobisto vaikutti olevan voimakkaammin yhteydessä tunteiden epävakaisuuteen kuin levottomuuteen ja impulsiivisuuteen: vauvaiän suolistomikrobiston koostumuksessa oli eroja matalat ja korkeat tunteiden epävakaisuuden pisteet leikki-iässä saaneiden lasten välillä, ja *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen ja lapsen sukupuoli olivat yhdessä yhteydessä tunteiden epävakaisuuden ilmenemiseen leikki-iässä, kun taustamuuttujien vaikutus kontrolloitiin. Vastaavia yhteyksiä emme havainneet suhteessa levottomuuteen ja impulsiivisuuteen tai ADHD-piirrekyselyn kokonaispisteisiin.

Tutkimuksessamme tuli ilmi joitakin ADHD-piirteisiin mahdollisesti yhteydessä olevia bakteerisukuja. Lisäksi sukupuolten välillä ilmeni joitain eroja yksittäisten bakteerisukujen määrässä eri ADHD-piirteissä. Yhteydet olivat kuitenkin heikkoja ja taustamuuttujien vaikutus merkittävä. Emme havainneet tutkimuksessa yhteyksiä suolistomikrobiston monimuotoisuuden ja ADHD-piirteiden välillä.

4.1. Suolistomikrobiston yhteys ADHD-piirteisiin

4.1.1. Suolistomikrobiston yhteys ADHD-piirrekyselyn kokonaispisteisiin

Suolistomikrobiston monimuotoisuus ei ollut yksin tai yhdessä sukupuolen kanssa yhteydessä siihen, saako tutkittava matalat vai korkeat kokonaispisteet ADHD-piirteitä kartoittavassa kyselyssä. Vastaavia tuloksia on saatu aiemmin myös muissa tutkimuksissa, joissa suolistomikrobiston monimuotoisuus ei ollut yhteydessä diagnosoituun ADHD:seen lapsilla eikä aikuisilla (Aarts ym., 2017; Jiang ym., 2018; Wan ym., 2020). Voi siis olla, että suolistomikrobiston monimuotoisuudella ei ole keskeistä roolia ADHD-piirteiden synnyssä, ja huomionarvoisempaa on, mitä bakteereja suolistossa esiintyy ja miten ne vuorovaikuttavat keskushermoston kanssa mikrobisto-suoli-aivoakselin kautta.

Wangin ja kumppaneiden tutkimuksessa (2020) havaittiin eroja alfadiversiteetissä ADHD-diagnoosin saaneiden ja kontrollien välillä. Tässä tutkimuksessa havaittiin kuitenkin, että ADHD-diagnoosin saaneet ja diagnosoimattomat kontrollihenkilöt erosivat toisistaan myös ruokailutottumusten perusteella. ADHD-diagnoosin saaneiden ruokavalioihin sisältyi enemmän jalostettuja viljatuotteita sekä vähemmän maitotuotteita ja B2-vitamiinia verrattuna kontrolliryhmän ruokavalioihin. Voikin olla, että ryhmien välisiä eroja suolistomikrobiston monimuotoisuudessa selittävät esimerkiksi osallistujien ruokavaliot, ei ADHD itsessään. Toisaalta Prehn-Kristensenin ja kumppaneiden tutkimuksessa (2018) havaittiin niin ikään eroja alfadiversiteetissä, mutta eroja ravinnossa ei havaittu. Tässä tutkimuksessa otoskoko oli kuitenkin huomattavan pieni (14 koehenkilöä ja 17 kontrollihenkilöä), ja kaikki tutkimuksen osallistujat olivat poikia, mikä vaikuttaa tulosten yleistettävyyteen. Lisäksi Prehn-Kristensenin ja kumppaneiden tutkimuksessa (2018) kymmenen 14 koehenkilöstä oli käyttänyt aiemmin lääkitystä ADHD:seen, kun Wangin ja kumppaneiden tutkimuksessa (2020) ADHD-lääkityksen käyttö jossain vaiheessa elämää oli poissulkukriteeri. Nämä syyt voivat osaltaan selittää Prehn-Kristensenin ja kumppaneiden (2018) poikkeavaa tutkimustulosta.

Matalat ja korkeat ADHD-piirrekyselyn kokonaispisteet saaneiden lasten suolistomikrobistojen koostumukset eivät eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Myöskään *Bifido/Veillonella*- tai *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen ei ollut *Bifido/Faecali*-klusteriin kuulumiseen verrattuna yhteydessä piirrekyselyn kokonaispistemäärään yksin tai yhdessä sukupuolen kanssa. Tutkimuksessa käytetty kysely pitää sisällään erityyppisiä ADHD-piirteitä, jotka voivat olla yhteydessä suolistomikrobistoon eri tavoin. Kyselyn kokonaispistemäärän tarkastelu ei siis

välttämättä anna kattavaa kuvaa suolistomikrobiston koostumuksen ja ADHD-piirteiden välisistä yhteyksistä, sillä se ei huomioi kokonaispisteiden sisäistä piirretason vaihtelua.

Koko otosta tarkasteltaessa matalat ADHD-piirrekyselyn kokonaispisteet saaneilla esiintyi enemmän *Anaerostipes*-suvun bakteereja ja korkeat pisteet saaneilla enemmän yhtä tunnistamatonta bakteerisukua. Vastaavaa löydöstä ei ole saatu aiemmissa tutkimuksissa, mutta *Anaerostipes*-suvun tiedetään olevan tärkeä suoliston hyvinvoinnin kannalta, sillä ne osallistuvat muun muassa lyhytketjuisten rasvahappojen tuotantoon (Bhattacharjee ym., 2025). Sukupuolittain tutkittaessa matalat ja korkeat kokonaispisteet saaneiden välillä yksittäisten bakteerisukujen esiintyvyydessä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa tytöillä eikä pojilla. Tutkimustulokset ADHD:n ja suolistomikrobiston välisistä yhteyksistä yksittäisten bakteerien osalta ovat olleet hyvin paljon toisistaan eriäviä, mikä osoittaa, että yksittäisten ADHD:seen liittyvien bakteerien tunnistaminen on vielä haasteellista.

4.1.2. Suolistomikrobiston yhteys ADHD:n alapiirteisiin

Suolistomikrobiston monimuotoisuus ei ollut yksin tai yhdessä sukupuolen kanssa yhteydessä tunteiden epävakaisuuteen tai levottomuuteen ja impulsiivisuuteen. Yhdessä aiemman tuloksemme kanssa liittyen ADHD-kokonaispistemäärään tämä tulos viittaa siihen, ettei suolistomikrobiston monimuotoisuus ole yksi ADHD-piirteiden taustalla vaikuttava tekijä. Päätelmäämme tukee Oun ja kumppaneiden (2022) tutkimus, jossa vauvaiän suolistomikrobiston monimuotoisuus ei ollut yhteydessä myöhemmän lapsuuden eksternalisoivaan käyttäytymiseen.

Suolistomikrobiston koostumus vaikuttaa olevan eri tavoin yhteydessä erilaisiin ADHD-piirteisiin. Tunteiden epävakaisuuden alapiirteessä matalat ja korkeat pisteet saaneiden lasten suolistomikrobistojen koostumukset erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi. Puolestaan levottomuuden ja impulsiivisuuden alapiirteessä pisteryhmien mikrobikoostumukset eivät eronneet toisistaan. Aiemmissa tutkimuksissa on löydetty eroja ADHD-diagnoosin saaneiden ja diagnosoimattomien kontrollihenkilöiden suolistomikrobistojen koostumuksissa, mutta siitä, mitä ADHD:seen liittyvät koostumukselliset erot tarkalleen ovat, ei ole saavutettu yksimielisyyttä (esim. Prehn-Kristensen ym., 2018; Wang ym., 2020). ADHD-diagnoosin saaneiden ihmisten keskuudessa esiintyy yksilöllistä vaihtelua eri ADHD-piirteiden määrässä, minkä vuoksi diagnoositasoinen

tarkastelu voi osaltaan selittää eroja saaduissa tutkimustuloksissa. Tutkimustuloksemme viittaa suolistomikrobiston rooliin erityisesti tunteiden epävakaisuuden ilmenemisen taustalla.

Muodostamistamme klustereista *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen oli yhdessä sukupuolen kanssa merkitsevästi yhteydessä tunteiden epävakaisuuteen leikki-iässä, kun vertailukohtana oli *Bifido/Faecali*-klusteri. Sukupuolten välillä yhteyden suunta oli erilainen niin, että pojilla *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen lisäsi todennäköisyyttä saada korkeat pisteet tunteiden epävakaisuudessa, kun taas tytöillä klusteriin kuuluminen oli yhteydessä matalampiin pisteisiin tunteiden epävakaisuudessa. Tyttöjen osalta tulos ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevä. Kyseisessä klusterissa *Bifidobacterium*-bakteerisuvulla oli muiden klustereiden bakteerikoostumuksiin verrattuna huomattavasti pienempi vaikutus. *Bifidobacterium*-suvun tiedetään olevan yksi GABA:a tuottavista bakteerisuvuista (Barrett ym., 2012; Yunes ym., 2016), ja on ehdotettu, että GABA:lla olisikin rooli ADHD:n synnyssä (Sukmajaya ym., 2021). Vähäisen määrän *Bifidobacterium*-suvun bakteereita vauvaiässä on havaittu lisäävän riskiä saada ADHD-diagnoosi myöhemmin lapsuudessa (Pärtty ym., 2015), ja GABA:n määrän on havaittu olevan vähäisempi ADHD-diagnoosin saaneilla lapsilla (Edden ym., 2012). Saamamme tulos *Veillonella/Bifido*-klusterin yhteydestä tunteiden epävakaisuuteen voi siis liittyä eroihin GABA:n tuotannossa.

4.1.3. Sukupuolten väliset erot suolistomikrobiston ja ADHD-piirteiden yhteyksissä

Tässä tutkimuksessa sukupuolierot suolistomikrobiston ja ADHD-piirteiden välisissä yhteyksissä näkyivät erityisesti *Veillonella/Bifido*-klusterissa. Pojilla *Veillonella/Bifido*-klusteriin kuuluminen oli merkitsevästi yhteydessä korkeampiin pisteisiin tunteiden epävakaisuudessa. Lisäksi yksittäisiä bakteerisukuja tutkittaessa pojilla, jotka saivat matalat pisteet tunteiden epävakaisuudessa, oli suolistoissaan enemmän *Agathobacter*-suvun bakteereita. Tytöillä, jotka saivat korkeat pisteet levottomuudessa ja impulsiivisuudessa, oli enemmän *Escherichia/Shigella*-sukua. Tätä tulosta tukee eräs aiempi tutkimus, jossa havaittiin niin ikään korkeampi määrä *Escherichia/Shigella*-bakteerisukua ADHD-diagnoosin saaneilla lapsilla (Soltysova ym., 2024). Nämä yksittäiset löydökset antavat varovaisesti osviittaa siitä, että sukupuolten välillä voisi olla eroja siinä, kuinka suolistomikrobisto vaikuttaa ADHD-piirteisiin. Tässä tutkimuksessa mikrobiklustereilla ei havaittu yhteyksiä ADHD-piirteisiin ilman sukupuolen interaktiovaikutusta. ADHD-alapiirteissä matalat ja

korkeat pisteet saaneiden lasten mikrobistojen välillä ei myöskään ollut eroja yksittäisten bakteerisukujen määrissä ennen tyttöjen ja poikien tutkimista erikseen. Vaikka taustamuuttujilla oli keskeinen rooli erityisesti tarkasteltaessa yksittäisiä bakteerisukuja, kertovat nämä tulokset siitä, että sukupuolen huomioiminen on oleellista suolistomikrobiston ja ADHD:n yhteyksiä tutkittaessa.

Aiemmat tutkimukset suolistomikrobiston ja ADHD:n välisistä yhteyksistä eivät ole tutkineet näiden yhteyksien eroja sukupuolten välillä. Lisäksi osassa aiemmista tutkimuksista tutkittiin pelkästään poikia, tai osallistujista suurin osa oli miespuolisia. Suolistomikrobiston koostumuksessa on kuitenkin havaittu eroja sukupuolten välillä (Dominianni ym., 2015; Singh & Manning, 2016), millä saattaa olla vaikutusta mikrobisto-suoli-aivoakselin toimintaan ja sitä kautta aivojen kehitykseen ja toimintaan sekä eroihin ADHD-tyyppisissä piirteissä. Sukupuolten välillä havaitut erot suolistomikrobiston koostumuksen yhteydestä ADHD-piirteisiin voivat selittyä suolistomikrobiston koostumuksen erilaisista yhteyksistä eri ADHD-piirteisiin ottaen huomioon ADHD:n erilaiset tyypilliset ilmenemistavat sukupuolten välillä.

4.2. Tutkimuksen vahvuudet ja rajoitukset

Eräänä vahvuutena tutkimuksessamme oli se, että ADHD:ta tarkasteltiin piirretasolla, mikä tarjosi uuden, ei-kliinisen näkökulman aiheeseen. Subkliinisten oireiden tutkiminen auttaa selvittämään, onko ADHD:seen liittyviä, varhaisessa vaiheessa havaittavia biomarkkereita löydettävissä. Biomarkkereiden varhainen tunnistaminen auttaisi ymmärtämään ADHD:n taustamekanismeja paremmin sekä mahdollistaisi tehokkaamman ongelmakohtiin puuttumisen. Myös lievemmät, ei diagnosoidut ADHD-piirteet vaikuttavat elämään, ja tämänkin takia piirretason tutkimus on oleellista. Lisäksi vahvuutena oli se, että tarkastelimme erikseen kahta erityyppistä ADHD-piirrettä. Tämä on tärkeää, sillä ADHD on monimuotoinen häiriö, ja erilaisten piirteiden taustamekanismit voivat erota toisistaan.

Tutkimuksemme yksi vahvuus oli myös se, että aineistomme oli pitkittäisaineisto. Tutkimuksessa tarkasteltiin vauvaiän mikrobiston yhteyksiä lapsen myöhempään käyttäytymiseen, mikä mahdollisti yhteyksien tarkastelun pidemmällä aikavälillä. Pitkittäisasetelmat helpottavat kausaalisuhteiden tunnistamista, ja elämän varhaisissa vaiheissa tutkiminen auttaa potentiaalisten biomarkkereiden ja keskeisten varhaisten ympäristötekijöiden löytämisessä ja tarkastelussa. Tässä

tutkimuksessa vain yhden mittauspisteen käyttö ja ei-kokeellinen tutkimusasetelma estivät kuitenkin kausaalisuuden tutkimisen.

Eräänä vahvuutena tässä tutkimuksessa oli myös suhteellisen suuri otoskoko verrattuna aiempiin tutkimuksiin suolistomikrobiston ja ADHD:n välisistä yhteyksistä: suurimmassa osassa aihetta tutkineissa tutkimuksissa otoskoko oli alle 100. Suurempi otoskoko lisää tutkimuksen tilastollista voimaa.

Sukupuolten välisten erojen huomioon ottaminen on myös tutkimuksemme vahvuus. Aiemmissa aiheesta tehdyissä tutkimuksissa ei tarkasteltu sukupuolten välisiä eroja suolistomikrobiston ja ADHD:n välisissä yhteyksissä. Näiden erojen ymmärtäminen on tärkeää ilmiön laajemman ymmärryksen kannalta, sillä sekä ADHD:ssa että suolistomikrobistossa esiintyy eroja sukupuolten välillä. Tarkkaamattomuusoireiden painottumisen takia ADHD jää usein huomaamatta tytöillä (Oroian ym., 2023), ja tästä syystä tapahtuva mahdollinen alidiagnosointi voi heijastua myös tutkimuskenttään. Tutkimuksen keskittyminen yhteen sukupuoleen voi puolestaan vääristää käsityksiä ADHD:sta ilmiönä ja heikentää tyttöjen ja naisten mahdollisuuksia varhaiseen diagnoosiin ja tukeen.

Tutkimuksessamme suurin osa, yli 90 prosenttia, osallistuvien lasten äideistä oli korkeakoulutettuja, mikä heikentää otoksemme edustavuutta ja mahdollisesti tulosten yleistettävyyttä. Tämä on tutkimuksemme heikkous. Sosioekonomisten tekijöiden jakautuminen todellista populaatiota vastaavammaksi voisi mahdollistaa sellaisten yhteyksien tutkimisen, jotka jäivät tässä tutkimuksessa tunnistamatta.

Tuloksia tulkittaessa on huomioitava, että ADHD-piirteitä mitattiin tutkimuksessa vanhempien arviomana itsearviointikyselyllä. Itsearviointimenetelmät eivät yleisesti välttämättä anna täysin luotettavaa kuvaa ilmiöstä, ja vanhempien antamat arviot omasta lapsesta riippuvat monista tekijöistä. Vanhempi voi esimerkiksi verrata lapsen käyttäytymistä sisaruksiin tai vastata kyselyyn ainoastaan lapsen viimeaikaisen käyttäytymisen perusteella (Conners, 1998). Lasta saatetaan myös arvioida turhan ankarasti tai suopeasti (Conners, 1998). On lisäksi mahdollista, että vanhemmat tulkitsevat kysymyksiä eri tavoin. Itsearviointimenetelmät ovat usein hyvä lisä monipuolisessa arvioinnissa, mutta tässä tutkimuksessa ADHD:ta arviointiin ainoastaan Conners-10-kyselyllä. Huomionarvoista on kuitenkin se, että vanhemmat havainnoivat lasta jatkuvasti useissa arjen tilanteissa ja ovat siten hyviä tietolähteitä pienten lasten arvioinnissa.

4.3. Tutkimuksen merkitys ja jatkotutkimus

ADHD diagnoosien määrän nousu on havaittu useissa tutkimuksissa (THL, 2024). Vaikka toisinaan on pohdittu, onko häiriön määrä todellisuudessa lisääntynyt, vai tunnistetaanko se nykyään paremmin sekä ammattitaitoisemmin (Collishaw, 2015), kertovat kasvaneet diagnoosien määrät taustatekijöiden tutkimuksen tarpeesta. ADHD:n tutkimus laajemmin piirretasolla pelkän diagnoositason sijaan on myös merkityksellistä, sillä nämä oireet voivat kuormittaa yksilöä monella tapaa myös ilman annettua diagnoosia. Suolistomikrobisto on laajasti yhteydessä ihmisen kehitykseen ja hyvinvointiin ja on siksi tärkeä osa myös ADHD:n tutkimusta. Kokonaisvaltainen ymmärrys yksilön elämään vaikuttavien häiriöiden kehityksestä on oleellista sopivan ja oikea-aikaisen tuen tarjoamiseksi.

ADHD:ta voisi jatkossa mitata laajemmin huomioiden yksityiskohtaisempi oirekuva. ADHD-piirteiden määrä ja painottuminen vaihtelee yksilöllisesti. Lisäksi ADHD-piirteet eroavat tutkimusten mukaan tyttöjen ja poikien välillä. Impulsiivisuus ja hyperaktiivisuus ovat yleisempiä pojilla, ja on tyypillistä, että tyttöjen oireet näkyvät vähemmän ulospäin (Loyer Carbonneau ym., 2020). Pääasiassa tarkkaamaton ADHD:n muoto on tytöillä yleisin (Oroian ym., 2023). Tutkimuksemme antoi osviittaa siitä, että suolistomikrobisto voi vaikuttaa erilaisiin ADHD-piirteisiin eri tavoin. Lisäksi näissä yhteyksissä havaittiin eroja sukupuolten välillä. Jotta suolistomikrobiston roolia ADHD-piirteiden taustalla voitaisiin ymmärtää paremmin, on tutkimuksessa tulevaisuudessa huomioitava erityyppiset ADHD-piirteet sekä ADHD-piirteiden erilaisuus sukupuolten välillä.

Tulevaisuudessa voisi olla kiinnostavaa tutkia suolistomikrobistoa useammalla mittausajankohdalla, sillä tämä voisi tarjota kattavampaa tietoa suolistomikrobiston yhteyksistä ADHD-piirteisiin. Tässä tutkimuksessa hyödynsimme ainoastaan yksivuotiaana kerättyjä mikrobinäytteitä. Lapsen kasvaessa erilaiset ympäristöaltistukset lisääntyvät, minkä vuoksi elintapojen ja -ympäristöjen vaikutukset näkyvät suolistomikrobistossa vasta myöhempinä elinvuosina. Esimerkiksi ruokavalio ja probioottivalmisteet vaikuttavat suoliston mikrobistoon (Dominianni ym., 2015; Liu ym., 2015), ja niillä on havaittu olevan yhteyksiä myös ADHD:seen (Howard ym., 2011; Pärtty ym., 2015). Neuropsykiatristen häiriöiden yhteydestä ruokavalioon voi kuitenkin olla vaikeaa osoittaa syy-seuraussuhteen suuntaa. Luontoaltistuksella on havaittu olevan positiivisia vaikutuksia lasten käyttäytymiseen, keskittymiskykyyn ja tunne-elämään (Flouri ym., 2014; Kuo & Taylor, 2004; Taylor ym., 2001), ja se vaikuttaa myönteisesti myös suolistomikrobiston monimuotoisuuteen ja koostumukseen (Zhang ym., 2024). Esimerkiksi näitä sekä ADHD-piirteisiin että suolistomikrobistoon yhdistettyjä ympäristötekijöitä ei tässä tutkimuksessa huomioitu. Pitkittäistutkimukset, jotka seuraavat suolistomikrobiston kehitystä, ADHD-piirteitä ja näihin kehityskulkuihin vaikuttavia ympäristötekijöitä laajasti, ovat tulevaisuudessa tarpeellisia.

4.4. Johtopäätökset

Tämän tutkimuksen tulosten mukaan suolistomikrobiston koostumus vaikuttaa olevan yhteydessä lapsen vanhempien arvioimiin ADHD-piirteisiin, erityisesti tunteiden epävakaisuuteen. Erot siinä, miten suolistomikrobiston koostumus on yhteydessä eri ADHD-piirteisiin, viittaavat suolistomikrobiston koostumuksen mahdolliseen rooliin erityisesti tunteiden säätelyssä fyysisen levottomuuden ja aktiivisuuden sijaan. Suolistomikrobisto voi siis vaikuttaa eri tavoilla erilaiseen käyttäytymiseen.

Tutkimuksemme perusteella suolistomikrobiston koostumus voisi olla yksi ADHD-piirteiden taustalla vaikuttava tekijä, mutta muun muassa taustamuuttujien vaikutusten takia tuloksia on tulkittava varoen. Tämä tutkimus yhdessä aiempien tutkimusten kanssa osoittaa, että selkeiden ADHD:seen liittyvien bakteerien tunnistaminen on vielä haasteellista. Olemassa olevat tutkimustulokset aiheesta eroavat toisistaan jonkin verran, mikä kertoo jatkotutkimuksen tarpeesta. Tämä tutkimus toi uutta näkökulmaa suolistomikrobiston ja ADHD:n välisten yhteyksien tutkimukseen keskittymällä ADHD-piirteisiin diagnoosien sijaan. Lisäksi sukupuolten välistä eroa näissä yhteyksissä ei tietääksemme ole aiemmin tutkittu.

Suolistomikrobisto osana psykologian alan tutkimusta voi auttaa ymmärtämään monia häiriöitä ja oireita yhä paremmin. Vaikka ymmärrys suolistomikrobiston roolista psykiatrisissa häiriöissä on lisääntynyt tieteellisessä tutkimuksessa viime vuosikymmeninä, on kokonaisvaltainen käsitys mikrobiston ja eri häiriöiden yhteyksistä vielä vähäistä. ADHD vaikeuttaa yksilön elämää monin tavoin, ja parempi ymmärrys ADHD:n taustatekijöistä sekä sitä kautta uudet hoitomuodot ovat tärkeitä elämänlaadun parantamiseksi.

LÄHTEET

Aarts, E., Ederveen, T. H. A., Naaijen, J., Zwiers, M. P., Boekhorst, J., Timmerman, H. M., Smeekens, S. P., Netea, M. G., Buitelaar, J. K., Franke, B., Hijum, S. A. F. T. van, & Vasquez, A. A. (2017). Gut microbiome in ADHD and its relation to neural reward anticipation. *PLOS ONE*, *12*(9), e0183509. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183509

Barrett, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2012). γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of Applied Microbiology*, *113*(2), 411–417. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x

Batty, M. J., Liddle, E. B., Pitiot, A., Toro, R., Groom, M. J., Scerif, G., Liotti, M., Liddle, P. F., Paus, T., & Hollis, C. (2010). Cortical Gray Matter in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Structural Magnetic Resonance Imaging Study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *49*(3), 229–238. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2009.11.008

Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., Deng, Y., Blennerhassett, P. A., Fahnestock, M., Moine, D., Berger, B., Huizinga, J. D., Kunze, W., McLean, P. G., Bergonzelli, G. E., Collins, S. M., & Verdu, E. F. (2011). The anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut–brain communication. *Neurogastroenterology & Motility*, *23*(12), 1132–1139. https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2011.01796.x

Bhattacharjee, D., Millman, L. C., Seesengood, M. L., & Seekatz, A. M. (2025). Diversity and prevalence of Anaerostipes in the human gut microbiota. bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2025.05.01.651700

Björkenstam, E., Björkenstam, C., Jablonska, B., & Kosidou, K. (2018). Cumulative exposure to childhood adversity, and treated attention deficit/hyperactivity disorder: A cohort study of 543 650 adolescents and young adults in Sweden. *Psychological Medicine*, *48*(3), 498–507. https://doi.org/10.1017/S0033291717001933

Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018). The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in Neuroscience*. https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049

Borre, Y. E., O'Keeffe, G. W., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Microbiota and neurodevelopmental windows: Implications for brain disorders. *Trends in Molecular Medicine*, *20*(9), 509–518. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.05.002

Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(38), 16050–16055. https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108

Breit, S., Kupferberg, A., Rogler, G., & Hasler, G. (2018). Vagus Nerve as Modulator of the Brain–Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, *9*. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2018.00044

Bäckhed, F. (2011). Programming of Host Metabolism by the Gut Microbiota. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *58*(Suppl. 2), 44–52. https://doi.org/10.1159/000328042

Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., Zhong, H., Khan, M. T., Zhang, J., Li, J., Xiao, L., Al-Aama, J., Zhang, D., Lee, Y. S., Kotowska, D., Colding, C., … Wang, J. (2015). Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe*, *17*(5), 690–703. https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.004

Calderón-Ospina, C. A., & Nava-Mesa, M. O. (2020). B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, *26*(1), 5–13. https://doi.org/10.1111/cns.13207

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, *13*(7), 581–583. https://doi.org/10.1038/nmeth.3869

Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology, 28*(2), 203–209.

Cassidy-Bushrow, A. E., Sitarik, A. R., Johnson, C. C., Johnson-Hooper, T. M., Kassem, Z., Levin, A. M., Lynch, S. V., Ownby, D. R., Phillips, J. M., Yong, G. J. M., Wegienka, G., & Straughen, J. K. (2023). Early-life gut microbiota and attention deficit hyperactivity disorder in preadolescents. *Pediatric Research*, *93*(7), 2051–2060. https://doi.org/10.1038/s41390-022-02051-6

Collishaw, S. (2015). Annual Research Review: Secular trends in child and adolescent mental health. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *56*(3), 370–393. https://doi.org/10.1111/jcpp.12372

Conners, C. K. (1998). Rating Scales in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Use in Assessment and Treatment Monitoring. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *59*(7), 24–30.

Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(10), 701–712. https://doi.org/10.1038/nrn3346

Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *16*(8), 461–478. https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3

Dominguez-Bello, M. G., Costello, E., K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 107*(26), 11971–11975, https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107

Dominianni, C., Sinha, R., Goedert, J. J., Pei, Z., Yang, L., Hayes, R. B., & Ahn, J. (2015). Sex, Body Mass Index, and Dietary Fiber Intake Influence the Human Gut Microbiome. *PLoS ONE*, *10*(4), 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124599

Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*, *308*(5728), 1635–1638. https://doi.org/10.1126/science.1110591

Edden, R. A. E., Crocetti, D., Zhu, H., Gilbert, D. L., & Mostofsky, S. H. (2012). Reduced GABA Concentration in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Archives of General Psychiatry*, *69*(7), 750–753. https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.2280

Erskine, H. E., Norman, R. E., Ferrari, A. J., Chan, G. C. K., Copeland, W. E., Whiteford, H. A., & Scott, J. G. (2016). Long-Term Outcomes of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Conduct Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *55*(10), 841–850. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2016.06.016

Evrensel, A., & Ceylan, M. E. (2015). The Gut-Brain Axis: The Missing Link in Depression. *Clinical Psychopharmacology & Neuroscience*, *13*(3), 239–244. https://doi.org/10.9758/cpn.2015.13.3.239

Flouri, E., Midouhas, E., & Joshi, H. (2014). The role of urban neighbourhood green space in children's emotional and behavioural resilience. *Journal of Environmental Psychology*, *40*, 179–186. https://doi.org/10.1016/j.jenvp.2014.06.007

Forsgren, M., Isolauri, E., Salminen, S., & Rautava, S. (2017). Late preterm birth has direct and indirect effects on infant gut microbiota development during the first six months of life. *Acta Paediatrica*, *106*(7), 1103–1109. https://doi.org/10.1111/apa.13837

Forsythe, P., & Bienenstock, J. (2010). Immunomodulation by Commensal and Probiotic Bacteria. *Immunological Investigations,* *39*(4/5), 429–448. https://doi.org/10.3109/08820131003667978

Fülling, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2019). Gut Microbe to Brain Signaling: What Happens in Vagus…. *Neuron*, *101*(6), 998–1002. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.02.008

Gershon, J. (2002). A Meta-Analytic Review of Gender Differences in ADHD. *Journal of Attention Disorders*, *5*(3), 133–184. https://doi.org/10.1177/108705470200500302

Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 108*(7) 3047–3052. https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108

Hill, M. J. (1997). Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *European Journal of Cancer Prevention*, *6*(1), 43–45.

Howard, A. L., Robinson, M., Smith, G. J., Ambrosini, G. L., Piek, J. P., & Oddy, W. H. (2011). ADHD Is Associated With a "Western" Dietary Pattern in Adolescents. *Journal of Attention Disorders*, *15*(5), 403–411. https://doi.org/10.1177/1087054710365990

Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Reddy, D. N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, *21*(29), 8787–8803. https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787

Jiang, H., Zhou, Y., Zhou, G., Li, Y., Yuan, J., Li, X., & Ruan, B. (2018). Gut microbiota profiles in treatment-naïve children with attention deficit hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research*, *347*, 408–413. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.03.036

Jiménez, E., Marín, M. L., Martín, R., Odriozola, J. M., Olivares, M., Xaus, J., Fernández, L., & Rodríguez, J. M. (2008). Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in Microbiology*, *159*(3), 187–193. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2007.12.007

Johnson, S., Hollis, C., Kochhar, P., Hennessy, E., Wolke, D., & Marlow, N. (2010). Psychiatric Disorders in Extremely Preterm Children: Longitudinal Finding at Age 11 Years in the EPICure Study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *49*(5), 453–463. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2010.02.002

Jokela, R., Ponsero, A. J., Dikareva, E., Wei, X., Kolho, K.-L., Korpela, K., de Vos, W. M., & Salonen, A. (2023). Sources of gut microbiota variation in a large longitudinal Finnish infant cohort. *eBioMedicine*, *94*, 104695. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104695

Korpela, K., Dikareva, E., Hanski, E., Kolho, K.-L., Vos, W. M. de, & Salonen, A. (2019). Cohort profile: Finnish Health and Early Life Microbiota (HELMi) longitudinal birth cohort. *BMJ Open*, *9*(6), e028500. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028500

Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association,* 47, 583–621.

Kuo, F. E., & Taylor, A. F. (2004). A Potential Natural Treatment for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Evidence From a National Study. *American Journal of Public Health*, *94*(9), 1580–1586. https://doi.org/10.2105/AJPH.94.9.1580

Lahti, L., & Shetty, S. (2017). microbiome R package. Bioconductor. https://doi.org/10.18129/B9.bioc.microbiome

Liu, X., Cao, S., & Zhang, X. (2015). Modulation of Gut Microbiota–Brain Axis by Probiotics, Prebiotics, and Diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(36), 7885–7895. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02404

Loyer Carbonneau, M., Demers, M., Bigras, M., & Guay, M.-C. (2020). Meta-Analysis of Sex Differences in ADHD Symptoms and Associated Cognitive Deficits. Journal of Attention Disorders, 25(12), 1640–1656. https://doi.org/10.1177/1087054720923736

Luukkonen, P. K., Sädevirta, S., Zhou, Y., Kayser, B., Ali, A., Ahonen, L., Lallukka, S., Pelloux, V., Gaggini, M., Jian, C., Hakkarainen, A., Lundbom, N., Gylling, H., Salonen, A., Orešič, M., Hyötyläinen, T., Orho-Melander, M., Rissanen, A., Gastaldelli, A., … Yki-Järvinen, H. (2018). Saturated Fat Is More Metabolically Harmful for the Human Liver Than Unsaturated Fat or Simple Sugars. *Diabetes Care*, *41*(8), 1732–1739. https://doi.org/10.2337/dc18-0071

Macpherson, A. J., & Harris, N. L. (2004). Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Reviews Immunology, 4*(6), 478–485. https://doi.org/10.1038/nri1373

Magnúsdóttir, S., Ravcheev, D., de Crécy-Lagard, V., & Thiele, I. (2015). Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. *Frontiers in Genetics*, *6*. https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00148

Mallick, H., Rahnavard, A., McIver, L. J., Ma, S., Zhang, Y., Nguyen, L. H., Tickle, T. L., Weingart, G., Ren, B., Schwager, E. H., Chatterjee, S., Thompson, K. N., Wilkinson, J. E., Subramanian, A., Lu, Y., Waldron, L., Paulson, J. N., Franzosa, E. A., Bravo, H. C., Huttenhower, C. (2021).

Multivariable Association in Population-scale Meta-omics Studies. *PLOS Computational Biology*, 17, e1009442. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009442

Margolis, K. G., Cryan, J. F., & Mayer, E. A. (2021). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, *160*(5), 1486–1501. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066

Martin, R., Makino, H., Yavuz, A. C., Ben-Amor, K., Roelofs, M., Ishikawa, E., Kubota, H., Swinkels, S., Sakai, T., Oishi, K., Kushiro, A., & Knol, J. (2016). Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota. *PLoS One*, *11*(6), e0158498. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158498

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE 8*(4):e61217. http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0061217

Morgan, M. (2024). DirichletMultinomial: Dirichlet-Multinomial Mixture Model Machine Learning for Microbiome Data. https://doi.org/10.18129/B9.bioc.DirichletMultinomial

Morgan, X. C., & Huttenhower, C. (2012). Chapter 12: Human Microbiome Analysis. *PLoS Computational Biology*, *8*(12), e1002808. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002808

Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., … Weedon, J. (2024). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6–8, https://CRAN.R-project.org/package=vegan

Oroian, B. A., Nechita, P., Marusic, R.-I., Pătrașcu, C., & Szalontay, A. S. (2023). Gender dynamics in ADHD: understanding ADHD in females from childhood to adulthood. *Buletin de Psihiatrie Integrativa*, *99*(4), 77–88. https://doi.org/10.36219/BPI.2023.4.09

Ou, Y., Belzer, C., Smidt, H., & de Weerth, C. (2022). Development of the gut microbiota in healthy children in the first ten years of life: Associations with internalizing and externalizing behavior. *Gut Microbes*, *14*(1), 2038853. https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2038853

Ou, Y., Belzer, C., Smidt, H., & de Weerth, C. (2024). Development of the gut microbiota in the first 14 years of life and its relations to internalizing and externalizing difficulties and social anxiety during puberty. *European Child & Adolescent Psychiatry*, *33*(3), 847–860. https://doi.org/10.1007/s00787-023-02205-9

Peng, M., Tabashsum, Z., Anderson, M., Truong, A., Houser, A. K., Padilla, J., Akmel, A., Bhatti, J., Rahaman, S. O., & Biswas, D. (2020). Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, *19*(4), 1908–1933. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12565

Polanczyk, G., de Lima, M. S., Horta, B. L., Biederman, J., & Rohde, L. A. (2007). The Worldwide Prevalence of ADHD: A Systematic Review and Metaregression Analysis. *American Journal of Psychiatry*, *164*(6), 942–948. https://doi.org/10.1176/ajp.2007.164.6.942

Prehn-Kristensen, A., Zimmermann, A., Tittmann, L., Lieb, W., Schreiber, S., Baving, L., & Fischer, A. (2018). Reduced microbiome alpha diversity in young patients with ADHD. *PLoS One*, *13*(7), e0200728. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200728

Price, T. S., Simonoff, E., Asherson, P., Curran, S., Kuntsi, J., Waldman, I., & Plomin, R. (2005). Continuity and Change in Preschool ADHD Symptoms: Longitudinal Genetic Analysis with Contrast Effects. *Behavior Genetics*, *35*(2), 121–132. https://doi.org/10.1007/s10519-004-1013-x

Pärtty, A., Kalliomäki, M., Wacklin, P., Salminen, S., & Isolauri, E. (2015). A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: A randomized trial. *Pediatric Research*, *77*(6), 823–828. https://doi.org/10.1038/pr.2015.51

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research, 41(D1), D590–D596. https://doi.org/10.1093/nar/gks1219

R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/

Raju, S. C., Lagström, S., Ellonen, P., de Vos, W. M., Eriksson, J. G., Weiderpass, E., & Rounge, T. B. (2018). Reproducibility and repeatability of six high-throughput 16S rDNA sequencing protocols for microbiota profiling. *Journal of Microbiological Methods*, *147*, 76–86. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.03.003

Riddle, M. A., Yershova, K., Lazzaretto, D., Paykina, N., Yenokyan, G., Greenhill, L., Abikoff, H., Vitiello, B., Wigal, T., McCracken, J. T., Kollins, S. H., Murray, D. W., Wigal, S., Kastelic, E., McGough, J. J., dosReis, S., Bauzó-Rosario, A., Stehli, A., & Posner, K. (2013). The Preschool Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Treatment Study (PATS) 6-Year Follow-Up. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *52*(3), 264–278. e2. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.12.007

Rietveld, M. j. h., Hudziak, J. j., Bartels, M., Beijsterveldt, C. e. m., & Boomsma, D. i. (2004). Heritability of attention problems in children: Longitudinal results from a study of twins, age 3 to 12. *Journal of Child Psychology*, *45*(3), 577–588. https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2004.00247.x

Rodriguez, A., Järvelin, M.-R., Obel, C., Taanila, A., Miettunen, J., Moilanen, I., Henriksen, T. B., Pietiläinen, K., Ebeling, H., Kotimaa, A. J., Linnet, K. M., & Olsen, J. (2007). Do inattention and hyperactivity symptoms equal scholastic impairment? Evidence from three European cohorts. *BMC Public Health, 7*(1), 327–327. https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-327

Said, Z. M., Subramanian, V. S., Vaziri, N. D., & Said, H. M. (2008). Pyridoxine uptake by colonocytes: A specific and regulated carrier-mediated process. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *294*(5), C1192–C1197. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00015.2008

Salonen, A., Nikkilä, J., Jalanka-Tuovinen, J., Immonen, O., Rajilić-Stojanović, M., Kekkonen, R. A., Palva, A., & de Vos, W. M. (2010). Comparative analysis of fecal DNA extraction methods with phylogenetic microarray: Effective recovery of bacterial and archaeal DNA using mechanical cell lysis. *Journal of Microbiological Methods*, *81*(2), 127–134. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.007

Satokari, R., Grönroos, T., Laitinen, K., Salminen, S., & Isolauri, E. (2009). Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Letters in Applied Microbiology*, *48*(1), 8–12. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x

Sciutto, M. J., & Eisenberg, M. (2007). Evaluating the Evidence For and Against the Overdiagnosis of ADHD. *Journal of Attention Disorders, 11*(2), 99–185. https://doi.org/10.1177/1087054707300094

Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, *27*(3), 379–423. https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x

Shaw, P., Eckstrand, K., Sharp, W., Blumenthal, J., Lerch, J. P., Greenstein, D., Clasen, L., Evans, A., Giedd, J., & Rapoport, J. L. (2007). Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(49), 19649. https://doi.org/10.1073/pnas.0707741104

Shoubridge, A. P., Choo, J. M., Martin, A. M., Keating, D. J., Wong, M.-L., Licinio, J., & Rogers, G. B. (2022). The gut microbiome and mental health: Advances in research and emerging priorities. *Molecular Psychiatry*, *27*(4), 1908–1919. https://doi.org/10.1038/s41380-022-01479-w

Silva, D., Colvin, L., Hagemann, E., & Bower, C. (2014). Environmental Risk Factors by Gender Associated With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Pediatrics*, *133*(1), e14–e22. https://doi.org/10.1542/peds.2013-1434

Silva, Y. P., Bernardi, A., & Frozza, R. L. (2020). The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Frontiers in Endocrinology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00025

Singh, P., & Manning, S. D. (2016). Impact of age and sex on the composition and abundance of the intestinal microbiota in individuals with and without enteric infections. *Annals of Epidemiology*, *26*(5), 380–385. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.03.007

Skoglund, C., Sundström Poromaa, I., Leksell, D., Ekholm Selling, K., Cars, T., Giacobini, M., Young, S., & Kopp Kallner, H. (2024). Time after time: Failure to identify and support females with ADHD – a Swedish population register study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *65*(6), 832–844. https://doi.org/10.1111/jcpp.13920

Smidts, D. P., & Oosterlaan, J. (2007). How Common are Symptoms of ADHD in Typically Developing Preschoolers? A Study on Prevalence Rates and Prenatal/Demographic Risk Factors. *Cortex*, *43*(6), 710–717. https://doi.org/10.1016/S0010-9452(08)70500-8

Soled, D., Keim, S. A., Rapoport, E., Rosen, L., & Adesman, A. (2021). Breastfeeding Is Associated with a Reduced Risk of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Among Preschool Children. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, *42*(1), 9–15. https://doi.org/10.1097/DBP.0000000000000854

Soltysova, M., Tomova, A., Paulinyova, M., Lakatosova, L., Trebaticka, J., & Ostatnikova, D. (2024). Gut microbiota differences in children and adolescents with autism, ADHD and anorexia nervosa, and its' possible link to the levels of satiety hormones. SSRN. http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.5013210

Sordillo, J. E., Korrick, S., Laranjo, N., Carey, V., Weinstock, G. M., Gold, D. R., O'Connor, G., Sandel, M., Bacharier, L. B., Beigelman, A., Zeiger, R., Litonjua, A. A., & Weiss, S. T. (2019). Association of the Infant Gut Microbiome With Early Childhood Neurodevelopmental Outcomes: An Ancillary Study to the VDAART Randomized Clinical Trial. *JAMA Network Open*, *2*(3), e190905. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.0905

Sukmajaya, A. C., Lusida, M. I., Soetjipto, & Setiawati, Y. (2021). Systematic review of gut microbiota and attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Annals of General Psychiatry*, *20*(1), 12. https://doi.org/10.1186/s12991-021-00330-w

Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Lastenneurologinen yhdistys ry:n, Suomen Nuorisopsykiatrisen yhdistyksen ja Suomen Lastenpsykiatriyhdistyksen asettama työryhmä. (2019). ADHD (aktiivisuuden ja tarkkaavuuden häiriö). Käypä hoito -suositus. Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. https://www.kaypahoito.fi/hoi50061#s17

Tarver, J., Daley, D., & Sayal, K. (2014). Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): An updated review of the essential facts. *Child: Care, Health & Development*, *40*(6), 762–774. https://doi.org/10.1111/cch.12139

Taylor, A. F., Kuo, F. E., & Sullivan, W. C. (2001). Coping with add: The Surprising Connection to Green Play Settings. *Environment and Behavior, 33*(1), 54–77. https://doi.org/10.1177/00139160121972864

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. (2012). *Psykiatrian luokituskäsikirja : suomalaisen tautiluokitus ICD-10:n psykiatriaan liittyvät diagnoosit.* (2. uud. p.) https://urn.fi/URN:ISBN:978-952-245-549-9

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. (23.1.2024). *Lasten ja nuorten ADHD-diagnoosit yleistyvät – alueelliset erot huomattavat.* https://thl.fi/-/lasten-ja-nuorten-adhd-diagnoosit-yleistyvat-alueelliset-erot-huomattavat

Volkow, N. D., Wang, G.-J., Kollins, S. H., Wigal, T., Newcorn, J. H., Telang, F., Fowler, J. S., Zhu, W., Logan, J., Ma, Y., Pradhan, K., Wong, C., & Swanson, J. M. (2009). Evaluating Dopamine Reward Pathway in ADHD: Clinical Implications. *JAMA: The Journal of the American Medical Association, 302*(10), 1084–1091. https://doi.org/10.1001/jama.2009.1308

Wan, L., Ge, W.-R., Zhang, S., Sun, Y.-L., Wang, B., & Yang, G. (2020). Case-Control Study of the Effects of Gut Microbiota Composition on Neurotransmitter Metabolic Pathways in Children With Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Frontiers in Neuroscience*, *14*, 127. https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00127

Wang, L.-J., Yang, C.-Y., Chou, W.-J., Lee, M.-J., Chou, M.-C., Kuo, H.-C., Yeh, Y.-M., Lee, S.-Y., Huang, L.-H., & Li, S.-C. (2020). Gut microbiota and dietary patterns in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *European Child & Adolescent Psychiatry*, *29*(3), 287–297. https://doi.org/10.1007/s00787-019-01352-2

Westerlund, J., Ek, U., Holmberg, K., Näswall, K., & Fernell, E. (2009). The Conners' 10-item scale: Findings in a total population of Swedish 10–11-year-old children. *Acta Paediatrica*, *98*(5), 828–833. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.01214.x

Wilcoxon, F. (1945). Individual Comparisons by Ranking Methods. *Biometrics Bulletin*, *1*(6), 80–83. https://doi.org/10.2307/3001968

Willcutt, E. G. (2012). The Prevalence of DSM-IV Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Meta-Analytic Review. *Neurotherapeutics*, *9*(3), 490–499. https://doi.org/10.1007/s13311-012-0135-8

Yatsunenko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R. N., Anokhin, A. P., Heath, A. C., Warner, B., Reeder,

J., Kuczynski, J., Caporaso, J. G., Lozupone, C. A., Lauber, C., Clemente, J. C., Knights, D., … Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, *486*(7402), 222–227. https://doi.org/10.1038/nature11053

Yunes, R. A., Poluektova, E. U., Dyachkova, M. S., Klimina, K. M., Kovtun, A. S., Averina, O. V., Orlova, V. S., & Danilenko, V. N. (2016). GABA production and structure of *gadB*/*gadC* genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota. *Anaerobe*, *42*, 197–204. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.10.011

Zhang, Y.-D., Zhou, G.-L., Wang, L., Browning, M. H. E. M., Markevych, I., Heinrich, J., Knibbs, L. D., Zhao, T., Ding, Y., Chen, S., Liu, K.-K., Dadvand, P., Dong, G.-H., & Yang, B.-Y. (2024). Greenspace and human microbiota: A systematic review. *Environment International*, *187*, 108662. https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108662

Zoetendal, E. G., Akkermans, A. D. L., Akkermans-van Vliet, W. M., de Visser, J. A. G. M., & de Vos, W. M. (2001). The Host Genotype Affects the Bacterial Community in the Human Gastronintestinal Tract. *Microbial Ecology in Health & Disease*, *13*(3), 129–134. https://doi.org/10.1080/089106001750462669