



TURUN  
YLIOPISTO

SUOLISTOMIKROBISTON AINEENVAIHDUNTATUOTTEIDEN JA  
DIVERSITEETIN YHTEYS EMOTIONAALISEEN  
TARKKAAVAISUUTEEN 30 KUUKAUDEN IÄSSÄ

Riina Aitokari

Pro Gradu -tutkielma

Turun yliopisto

Psykologian ja logopedian laitos

Psykologia

Marraskuu 2022

*Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.*

TURUN YLIOPISTO

Yhteiskuntatieteellinen tiedekunta, Psykologian ja logopedian laitos

AITOKARI, RIINA: Suolistomikrobiston aineenvaihduntatuotteiden ja diversiteetin yhteys emotionaaliseen tarkkaavaisuuteen 30 kuukauden iässä

Pro Gradu -tutkielma, s. 46

Psykologia

Marraskuu 2022

---

Tutkimusten mukaan kasvoihin suuntautuva tarkkaavaisuus on erilaista riippuen niillä ilmaistusta emootiosta. Varhaiset yksilölliset erot tässä emotionaalisisessa tarkkaavaisuudessa voivat vaikuttaa myöhempään tiedonkäsittelyyn ja sosioemotionaaliseen kehitykseen. Viime vuosina tutkimustieto suolistomikrobiston ja aivojen kehityksen ja toiminnan välisestä vastavuoroisesta yhteydestä on jatkuvasti lisääntynyt, mutta tieto mikrobiomi-suolisto-aivot-akselin toiminnasta lapsuuden aikana on edelleen vähäistä. Lapsuus on kuitenkin sekä aivojen että suolistomikrobiston kehityksen kannalta vilkasta ja altistuksille herkkää aikaa. Alustava tutkimusnäyttö viittaa suolistomikrobiston olevan varhaisen lapsuuden aikana yhteydessä kognitiiviseen, sosiaaliseen ja emotionaaliseen kehitykseen. Suolistomikrobit tuottavat aineenvaihdunnassaan pääasiassa ruoansulatuksessamme hajoamattomista kuiduista lyhytketjuisia rasvahappoja. Nämä rasvahapot ovat yksiä suolistomikrobiston ja aivojen yhteyttä välittävistä tekijöistä. Tässä tutkimuksessa onkin tarkoitus kartoittaa näiden aineenvaihduntatuotteiden sekä yksilön mikrobiyhteisön sisäisen monimuotoisuuden, eli alfadiversiteetin, yhteyttä emotionaaliseen tarkkaavaisuuteen huomioiden lisäksi sukupuolen merkitys mahdollisena moderoivana tekijänä.

Tämän pro gradu -tutkielman aineisto on osa FinnBrain-kohorttitutkimuksen 30 kuukauden ikäpisteen aineistoa. Otokseen on sisällytetty ne lapset (n = 105), jotka ovat osallistuneet silmänliikemittauksiin kasvoihin suuntautuvan emotionaalisen tarkkaavaisuuden arvioimiseksi, ja joilta on mitattu ulostenäytteistä sekä alfadiversiteetti (Shannon-indeksi) että lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuudet. Silmänliikemittauksissa käytettiin overlap-asetelmaa, jossa mitattiin lapsen todennäköisyyttä siirtää katse emotionaalisisista kasvoista (neutraalit, iloiset, pelokkaat) tai kontrolliärsykkeestä näytön sivulle esitettyyn häiriöärsykkeeseen. Näiden todennäköisyyksien perusteella laskettiin myös ilmekohtainen prosessointivinouma.

Alfadiversiteetin ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välillä ei havaittu yhteyksiä. Sen sijaan tulokset osoittivat, että lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuudet olivat yhteydessä pelokkaisiin ja neutraaleihin kasvoihin suuntautuvaan tarkkaavaisuuteen. Tarkemmin ottaen isobutyraatin ja isovaleraatin pitoisuudet ennustivat korostunutta pelokkaisiin kasvoihin suuntautunutta tarkkaavaisuutta. Valeraatti ennusti sukupuolen ja valeraatin yhdysvaikutusmallissa pienempää neutraalivinoumaa, mutta myös yhdysvaikutuksesta oli viitteitä, kuten myös valeraatin ja neutraalivinouman negatiivisesta korrelaatiosta pojilla. Sukupuoli ei moderoinut merkittävästi rasvahappojen ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden yhteyksiä, mutta korrelaatioiden tasolla havaittiin muitakin sukupuolieroja. Tytöillä valeraatti oli negatiivisesti yhteydessä pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyteen ja asetaatti positiivisesti neutraalivinoumaan. Tulokset viittaavat mahdollisesti siihen, että suolistomikrobit voivat tuottamiensa lyhytketjuisten rasvahappojen välityksellä säädellä emotionaalista tarkkaavaisuutta, minkä vuoksi rasvahappojen tuotantoon kohdennetuilla interventioilla voidaan mahdollisesti vaikuttaa sosioemotionaalisen kehityksen suuntaan.

**Asiasanat: FinnBrain-kohorttitutkimus, emotionaalinen tarkkaavaisuus, mikrobiomi-suolisto-aivot-akseli, lyhytketjuiset rasvahapot, alfadiversiteetti, sukupuoli**

# Sisällys

1	JOHDANTO .....	1
1.1	Kasvoihin suunnattu tarkkaavaisuus .....	1
1.1.1	Kasvovinouma .....	1
1.1.2	Ilmekohtainen kasvojen prosessointi .....	2
1.1.3	Emotionaalisten kasvojen prosessoinnin iänmukaiset muutokset .....	4
1.1.4	Emotionaalisten kasvojen prosessointiin yhteydessä olevia tekijöitä.....	5
1.2	Mikrobiomi-suolisto-aivot-akseli .....	6
1.2.1	Suolistomikrobiomin kehitys ja koostumukseen vaikuttavia tekijöitä .....	7
1.2.2	Lyhytketjuiset rasvahapot suolistomikrobiomin ja aivojen yhteyden välittäjinä.....	8
1.2.3	Alfaversiteetti monimuotoisuuden mittarina .....	9
1.2.4	Suolistomikrobiomi ja sosioemotionaalinen prosessointi.....	10
1.3	Tutkimuskysymykset ja hypoteesit .....	12
2	MENETELMÄT.....	14
2.1	Tutkittavat .....	14
2.2	Emotionaalisten kasvojen prosessointi.....	15
2.3	Suolistomikrobiomin alfaversiteetti .....	17
2.4	Lyhytketjuiset rasvahapot.....	18
2.5	Tilastolliset menetelmät .....	18
3	TULOKSET .....	19
3.1	Taustamuuttajat .....	19
3.2	Päämuuttujien tunnusluvut ja sukupuolierot .....	21
3.3	Diversiteetin ja kasvojen prosessoinnin yhteydet .....	22
3.4	Lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvojen prosessoinnin yhteydet.....	22
4	POHDINTA.....	31
4.1	Emotionaalinen tarkkaavaisuus ja alfaversiteetti .....	31
4.2	Emotionaalinen tarkkaavaisuus ja lyhytketjuiset rasvahapot.....	32
4.3	Sukupuoli moderoivana tekijänä.....	34
4.4	Tutkimuksen vahvuudet ja rajoitukset .....	35
4.5	Yhteenvedo.....	36
	LÄHTEET.....	37

# 1 JOHDANTO

Tarkkaavaisuuden säätely emotionaalisissa ja sosiaalisissa tilanteissa on etenkin lapsuudessa tärkeä itsesäätelyn keino, sillä tarkkaavaisuus määrittää, mitkä osat ympäröivästä tietotulvasta päätyvät tarkemmin prosessoitaviksi (Posner ym., 2014). Emotionaalisessa tarkkaavaisuudessa jo varhain ilmenevät yksilölliset erot voivat ennakoita tulevaa sosioemotionaalista kehitystä ja sen riskejä (Peltola ym., 2018). Tämän vuoksi emotionaalisen tarkkaavaisuuden normatiivisen kehityksen ja sitä säätelevien tekijöiden tunteminen on oleellista. Kasvava määrä tutkimuksia on osoittanut suolistomikrobiston ja aivojen olevan vastavuoroisesti yhteydessä toisiinsa säädellen toistensa toimintaa erilaisia hermostollisia, hormonaalisia, immunologisia ja metabolisia reittejä pitkin (Cryan ym., 2019). Tämän vuorovaikutuksen vaikutukset ulottuvat myös kognitiivisiin, sosiaalisiin ja emotionaalisiin prosesseihin. Erilaisten psykiatristen ja kehityksellisten häiriöiden biologista taustaa sekä mahdollisia interventioita selvittäessä suolistomikrobit onkin alettu ottaa huomioon. On siis mahdollista, että suolistomikrobit voivat osallistua myös emotionaalisen tarkkaavaisuuden säätelyyn. Tässä FinnBrain-hankkeeseen kuuluvassa työssä tutkitaan suolistomikrobiston monimuotoisuuden sekä mikrobien tuottamien aineenvaihduntatuotteiden, lyhytketjuisten rasvahappojen ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välisiä yhteyksiä 30 kuukauden iässä.

## 1.1 Kasvoihin suunnattu tarkkaavaisuus

Ihminen on vahvasti sosiaalinen laji, joten myös aivojemme toiminta on muokkaantunut tukemaan toimintakykyämme sosiaalisessa ympäristössä. Tämä näkyy muun muassa tarkkaavaisuutemme suuntautumisena biologisesti merkityksellisiin ärsykkeisiin, joita ovat ihmisille usein nimenomaan sosiaaliset ärsykkeet (Leppänen & Nelson, 2009). Kasvot ovat sosiokognitiivisen prosessoinnin, sosiaalisen kanssakäymisen sekä hengissä selviämisen kannalta merkittäviä, sillä ne välittävät identiteetin kaltaisten tekijöiden lisäksi tietoa myös esimerkiksi emootioistamme, mahdollisista aikeistamme tai tarkkaavaisuutemme kohteista (mm. ympäristön uhista).

### 1.1.1 Kasvovinouma

Ihmisaivot vaikuttaisivat olevan suuntautuneet kasvoärsykkeiden prosessointiin syntymästä lähtien, sillä jo vastasyntyneet seuraavat korostuneesti kasvomaisia ärsykejä (Johnson ym., 1991). Tarkkaavaisuuden suuntaamista voimakkaammin kasvoihin kuin muihin objekteihin kutsutaan ”kasvovinoumaksi” (engl. face bias), joka on varhainen edellytys monimutkaisempien sosioemotionaalisten taitojen kehittymiselle (Morales ym., 2016 a; Peltola ym., 2018). Tutkimusten mukaan kasvovinouma on selkeästi havaittavissa noin kuuden kuukauden iästä lähtien visuaalisen

havainnointikyvyyn ja tarkkaavaisuuden ylläpidon ja valinnaisen säätelyn kehittymisen myötä (Leppänen, 2016). Tällöin lapsi saa kokemusta kasvoista lajityyppillisinä sosiaalisina signaaleina ja aikuismaisen kasvojen prosessoinnin verkoston kehittyminen mahdollistuu (Johnson ym., 1991: Johnson ym., 2015: Leppänen & Nelson 2009).

Kasvojen prosessoinnin eri puoliin on aivoissamme erikoistunut laajoja toisiinsa kytkeytyneitä ja keskenään viestiviä alueita. Kasvojen aivokuorella tapahtuvan visuaalisen prosessoinnin verkoston ytimen muodostavat takaraivolohkon alaosan kasvoalue, varttinäpoimun kasvoalue ja takimmainen ylempi ohimouurre (Haxby ym., 2002; Leppänen & Nelson, 2009). Ydinalueisiin on yhteydessä laajalti kasvojen merkityksen prosessointia tarkentavia ja muokkaavia aivoalueita, liittyen esimerkiksi emootioiden prosessointiin limbisillä alueilla (Haxby ym., 2002). Jo varhain lapsuudessa toiminnalliset limbiset alueet, manteliumake ja etuotsalohko, reagoivat kasvoihin prosessoinnin varhaisessa vaiheessa ja voivat säädellä aivokuorella tapahtuvaa kasvojen ja emootioiden yksityiskohtaisempaa prosessointia sekä tarkkaavaisuuden suuntaamista ärsykkeen ominaisuuksien, aiempien kokemusten ja kontekstin mukaisen emotionaalisen merkityksen perusteella (Leppänen & Nelson, 2009).

### *1.1.2 Ilmekohtainen kasvojen prosessointi*

Tunteiden tunnistaminen ja kyky säädellä omaa toimintaansa niiden perusteella on tärkeää lapsen kehitykselle ja varhaiselle kommunikoinnille ympäristönsä kanssa. Emotionaalisesti merkittäviä ärsykeitä, kuten kasvojen ilmeitä käsitellään aivoissamme eri tavalla kuin neutraaleja ärsykeitä. Tätä tukee näyttö silmänliike- sekä aivokuvannustutkimuksista. Silmänliiketutkimusten perusteella ero emotionaalisiin ja neutraaleihin kasvoihin suunnatussa tarkkaavaisuudessa ilmenee ensimmäisen ikävuoden toisen puoliskon aikana (esim. Leppänen, 2016). Tällöin visuaaliseen tarkkuuteen ja emotionaaliseen prosessointiin vaaditut aivoalueet ovat riittävän kehittyneitä, jotta eri tunteita pystytään vähintään erottamaan toisistaan erilaisiksi kasvojen ilmeistä, vaikka niiden merkityksen ymmärrys voi vielä olla epämääräistä (Leppänen & Nelson, 2009; Nelson & Dolgin, 1985). Lisäksi seitsemän kuukauden ikäisten lasten kasvojen prosessointiin liitetyt ERP-signaalit ovat voimakkaampia pelokkaita kuin neutraaleja kasvoja katsottaessa (Leppänen ym., 2007). Posnerin ja Petersenin (2012) mallin mukaisesti tarkkaavaisuus on moniosainen prosessi, joka voidaan jakaa tarkkaavaisuuden valmiutta ylläpitävään valppauteen (engl. alerting), tarkkaavaisuuden suuntaamiseen (engl. orienting) sekä tahdonalaisesti säädeltyyn tavoitteenmukaiseen toiminnanohjaukselliseen tarkkaavaisuuteen, joka voi joko estää tai voimistaa reaktiivisia vasteita (engl. executive attention). Tarkkaavaisuuden suunnan säätelyä ärsykkeen ominaisuuksien ja

merkityksellisuuden sekä aiempien kokemusten mukaisesti pidetään varhaisena itsesäätelyn ja tunnesäätelyn keinona, jonka rinnalle kehittyy myöhemmin toiminnanohjauksellisen säätely (Posner & Rothbart, 2014).

Ilmekohtaisesti eniten on tutkittu pelokkaisiin tai vihaisiin, eli uhkaa ilmaiseviin kasvonilmeisiin suuntautuvaa tarkkaavaisuutta. Pelon tunnistamisen toisen kasvoilla ajatellaan olevan evolutiivisesti tärkeää, jotta pystymme reagoimaan nopeasti pelon ilmaisemaan uhkaan tai suuntaamaan tarkkaavaisuuden resursseja tarkkaa huomiota vaativaan tilanteeseen. Korostunutta tarkkaavaisuutta pelkoa ilmaiseviin kasvoihin kutsutaan ”pelkovinoumaksi” (engl. fear bias) (Peltola ym., 2009). Se näkyy muun muassa tarkkaavaisuuden suuntautumisena enemmän pelokkaisiin kuin iloisiin tai neutraaleihin kasvoihin, niiden katsomisena pidempikestoisesti sekä viivästyneenä irrottautumisena pelokkaista kasvoista häiriöärsykkeeseen muihin ilmeisiin tai kasvottomaan ärsykkeeseen verrattuna (Peltola ym., 2009; LoBue & DeLoache, 2010). Tarkkaavaisuuden suuntaamiseen yhdistetyn Nc-ERP-signaalin (engl. negative central) ja katseluajan perusteella pelkovinouma kehittyy 5–7 kuukauden välissä (Peltola ym., 2009). Dynaamisia kasvoärsykeitä näytettäessä pidempi katselu-aika oli kuitenkin havaittavissa jo viiden kuukauden ikäisillä (Heck ym., 2016). Pelkovinouma kehittyy ennen kielellistä kommunikointia ikävaiheessa, jossa lapsi alkaa liikkua ja tutkia ympäristöään enemmän, eli riskit lisääntyvät ja toisten ilmeiden kautta saatu tieto voi olla erityisen tärkeää (Leppänen & Nelson, 2012). Onkin ehdotettu, että tunnistamalla pelokkaat kasvot tehokkaasti lapsi oppii ympäröivien ihmisten kasvojen ilmeiden kautta ympäristön vaaroista. Tätä tukien lasten Nc-signaali objektiin on kuuden kuukauden iässä voimakkaampi, kun aikuinen ilmaisee pelokasta ilmettä objektiä (uhan kohdetta) kohtaan neutraaliin ilmeeseen verrattuna (Hoehl & Striano, 2010). Vastaavaa eroa ei havaita, kun aikuisen katse ei ole suuntautunut objektiin. Suorempaa uhkaa ilmaiseviin vihaisiin kasvoihin tarkkaavaisuus sen sijaan siirtyy nopeammin kuin iloisiin, mutta niistä pois siirtymisen nopeudessa ei ole eroa (Burriss ym., 2017; LoBue & DeLoache, 2010; Morales ym., 2017). Tämän on ajateltu liittyvän siihen, että suora uhka havaitaan nopeasti, jonka jälkeen se aiheuttaa välttämiskäyttäytymistä. Vihaan verrattuna pelko epäsuorana uhan merkkinä vaatii tarkempaa prosessointia uhan lähteen selvittämiseksi, eli tarkkaavaisuuden resurssien pidempää suuntaamista pelkoa ilmaisevaan ärsykkeeseen.

Neutraaleihin ja osin myös iloisiin kasvoihin on tutkimuksissa usein suhtauduttu kontrollimaisina ilmeinä, joihin uhkaa ilmaisevia kasvoja verrataan. Neutraalit kasvot ovat kuitenkin tulkinnallisesti haastavat, ja voivat myös välittää emotionaalista tietoa (Marusak ym., 2017; Paija, 2020; Rollins ym., 2021; Tottenham ym., 2013). Vaish ym. (2008) ehdottivat, että vauvojen tarkkaavaisuus suuntautuu ensin herkästi positiivisiin ärsykkeisiin, kuten iloisiin kasvoihin ennen uhkavinouman kehittymistä.

Tarkkaavaisuus sosiaalisesti palkitseviin iloihin kasvoihin on liitetty yleisesti positiivisiin ja palkitseviin ärsykeisiin suuntautumiseen (Shechner ym., 2012) ja niiden katsominen aktivoi neutraaleja kasvoja voimakkaammin palkitsevuuteen ja kiintymykseen liitettyjä aivoalueita (esim. etuotsalohko) (Minagawa-Kawai ym., 2009). Iloon suuntautumisella on havaittu olevan positiivisia vaikutuksia, kuten ahdistuneiden lasten ahdistuksen vähentyminen (Waters ym., 2013). Lisäksi Troller-Renfree ym. (2017) tutkivat kasvoihin suunnattua tarkkaavaisuutta sijoitetuilla lapsilla, joilla psykososiaalisen kuormituksen määrä on usein suuri ja muun muassa sosiaalisten, emotionaalisten ja käytöksen häiriöiden riski keskimääräistä suurempi. He havaitsivat ilovinouman olevan yhteydessä lasten enemmän muita huomioivaan käyttäytymiseen ja vähempään sosiaaliseen vetäytyneisyyteen ja ahdistuneisuuteen. Ilovinouman merkitys ei kuitenkaan välttämättä ole yksiselitteinen. Heterogeenisessä yleispopulaatiossa lasten tarkkaavaisuus iloihin kasvoihin on yhdistetty varhaiseen positiivisesti emotionaaliseen ja ulospäinsuuntautuneeseen temperamenttiin (engl. exuberance), heikompaan itsesäätely- ja inhibitiokykyyn sekä ulospäinsuuntautuvaan käytösoireiluun ja tarkkaavaisuuden haasteisiin päiväkotij- ja kouluikäisillä lapsilla (Morales ym., 2016 b; Morales ym., 2020). Kasvoihin suuntautuva tarkkaavaisuus vaihtelee siis ilmekohtaisesti ja sen merkitys sen hetkisen tai myöhemmän sosioemotionaalisen kehityksen kannalta vaihtelee vuorovaikutuksessa muiden yksilöllisten tekijöiden kanssa.

### *1.1.3 Emotionaalisten kasvojen prosessoinnin iänmukaiset muutokset*

Emotionaalisen tarkkaavaisuuden kehittymisestä iän myötä on saatu osin ristiriitaisia tuloksia, ja kehitystä muokkaavien tekijöiden hahmottaminen on vielä keskeneräistä. Poikittaistutkimuksissa 9–48 kuukauden ikäisillä (Burriss ym., 2017) ja 4–24 kuukauden ikäisillä (Morales ym., 2017) iloisia tai vihaisia kasvoja katseltaessa ikä ei vaikuttanut tarkkaavaisuusvinoumiin. Keskenään samalla silmänliikemittauksiin perustuvalla tutkimusasetelmalla toteutetuissa pitkittäistutkimuksissa sen sijaan kasvoihin suunnatun tarkkaavaisuuden kesto vaikuttaisi lyhenevän iän myötä neutraaleja, iloisia tai pelokkaita kasvoja katsottaessa (Nakagawa & Sukigara 2012; Peltola ym. 2018). Toisaalta Leppäsen ym. (2018) tutkimuksessa 36 kuukauden ikäisten lasten katseluaikat kaikkiin kasvoärsykeisiin olivat pidempiä kuin 5–12 kuukauden ikäisillä. Iän myötä lyhentyvä katseluaika ja suurempi katseen irrottamistodennäköisyys häiriöärsykeeseen erityisesti pelokkaista ja iloisista kasvoista 30 kuukauden ikäisillä kahdeksan kuukauden ikäisiin verrattuna havaittiin myös aineistossa (Paija, 2020), jonka 30 kuukauden silmänliikemittauksesta on osaa käytetty myös tässä tutkielmassa. Vaikuttaa siltä, että pienemmillä lapsilla tarkkaavaisuus suuntautuu siis kasvoihin myöhempää voimakkaammin, joten tarkkaavaisuudella muiden kasvoihin saattaa olla pienemmille lapsille

kehityksellisesti isompi merkitys. Kyky myös tarkoituksellisesti säädellä omaa tarkkaavaisuuttaan lisääntyy iän myötä aivojen ja toiminnanohjauksen verkoston kypsyessä (Posner ym., 2014). Osittain kasvoihin suuntautuneen tarkkaavaisuuden kehittyminen riippuu myös kasvoilla näyttäytyvästä emootiosta. Iän myötä kasvojen prosessointiin voi siis vaikuttaa yhä enemmän myös yleinen emootioiden prosessointia tukevien taitojen kehittyminen, jolloin emootioiden tietoinen tunnistaminen ja niiden merkityksen ymmärtäminen lisääntyy (Leppänen & Nelson, 2012; Ruba & Pollak, 2020).

Esimerkiksi pelkoviinoman kehityksestä iän myötä on jonkin verran risteäviä tuloksia, mutta useassa tutkimuksessa on saatu näyttöä, että pelkoviinoma vähintäänkin lieventyy iän myötä, eikä yhteys varhaislapsuuden kasvojen prosessointiin ole vahva (Nakagawa & Sukigara 2012; Paija 2020; Peltola ym., 2018). Sekä Paija (2020) että Leppänen ym. (2018) havaitsivat lisäksi, että 30 ja 36 kuukauden ikäisillä kasvottoman kontrolliärsyккеeseen ja iloisiin kasvoihin suunnatun tarkkaavaisuuden ero kaventui tilastollisesti ei-merkitseväksi, joten on mahdollista, että tässä iässä ilovinoumaa ei esiinny ollenkaan, vaikkakin se on poikkileikkaustutkimuksissa havaittu (Burriss ym., 2017).

#### *1.1.4 Emotionaalisten kasvojen prosessointiin yhteydessä olevia tekijöitä*

Vaikka aivomme ovat virittäytyneet kasvojen ja niiden ilmeiden prosessointiin, voi emotionaalisten kasvojen prosessointi myös vaihdella yksilöittäin sisäisten tekijöiden, kuten geneettisten ja temperamenttitekijöiden ja ulkoisten tekijöiden, kuten erilaisen kehitysympäristön ja elämäkokemusten sekä näiden eri tekijöiden yhteisvaikutuksen myötä (Morales ym., 2016a). Esimerkiksi tiettyjä serotoniinijärjestelmien toimintaan liittyviä geenivariantteja on yhdistetty negatiivisiin ärsykkeisiin suunnatun tarkkaavaisuuden vaihteluun (Forssman ym., 2014; Pergamin-Hight ym., 2012), vaikka tulokset ovat olleet osin epäjohdonmukaisia (mm. Kataja ym., 2020b). Myös äidin raskaudenaikainen ja/tai raskauden jälkeinen stressi voi mahdollisesti vaikuttaa pitkäkestoisesti lapsen aivojen rakenteen ja toiminnan kehitykseen sekä kasvoihin suunnattuun tarkkaavaisuuteen, vaikka näyttö on osin ristiriitaista (Kataja ym., 2019; Kataja ym., 2020a; Leppänen ym., 2018; Morales ym., 2017).

Varhainen kasvoihin suuntautuneisuus voi kertoa myös myöhemmän sosiaalisen kehityksen suunnasta. Suurempi responsiivisuus kasvoille jo varhaislapsuudessa voi viestiä vastaanottavuudesta muita kohtaan, sillä se korreloi lisääntyneen spontaanin auttamisen kanssa kahden vuoden iässä ja vähemmän piittaamattomuuden kanssa neljän vuoden iässä (Peltola ym., 2018). Myös pelkoviinoma on normaali visuaalisen tarkkaavaisuuden sosiaalista vuorovaikutusta kehittävä ominaisuus, joka voi jopa edistää turvallisen kiintymyssuhteen muodostumista (Peltola ym.,



2015). Toisaalta ylikorostunut vaikeus irrottautua negatiivisista esimerkiksi uhkaa ilmaisevista ärsykkeistä voi olla yhteydessä itsesäätelyn vaikeuteen ja olla riskitekijä emotionaalisten ja sosiaalisten häiriöiden kehittymiselle ja niiden ylläpidolle (Bar-Haim ym., 2007; Nakagawa & Sukigara, 2012). Ahdistukseen on liitetty sekä vähäisempi ilovinouma että voimakkaampi uhkavinouma (Dudeny ym., 2015; Shechner ym., 2012). On ehdotettu, että normaalisti iän myötä toiminnanohjauksellisen itsesäätelykyvyn lisääntyessä pystytään inhiboimaan uhkaan suuntautunutta tarkkaavaisuutta. Ahdistuneiden lasten ja kontrollilasten ero uhkavinouman voimakkuudessa kasvaakin iän myötä 4–18-vuotiailla (Dudeny ym., 2015). Joillakin lapsilla tarkkaavaisuus voi suuntautua automaattisesti ylikorostuneesti uhkaan, jolloin pyrkimys säädellä tunteita ja tarkkaavaisuutta kontrolloidusti vaatii enemmän resursseja, jolloin tarkkaavaisuuden säätely voi olla joustamattomampaa ja tehottomampaa (Henderson & Wilson, 2017). Tämä voi tehostaa edelleen tarkkaavaisuuden suuntautumista tai jäämistä uhkaan lisäten riskiä epäsuotuisalle kehityskululle, joka voi johtaa häiriöihin (Morales ym., 2016a). On myös saatu näyttöä toiminnanohjauksen yhteydestä tarkkaavaisuusvinoumiin sekä varhaisen temperamentin ja tarkkaavaisuusvinoumien väliseen yhteyteen (Morales ym., 2016b; Morales ym., 2020; Nakagawa & Sukigara, 2012).

Näyttö sosioemotionaalisen toiminnan ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välisestä mahdollisesta syy-seuraussuhteesta ja sen suunnasta, medioinnista ja moderoinnista tai yhteyttä välittävistä mekanismeista eri ikävaiheissa on kuitenkin vielä puutteellista. Joka tapauksessa yksilölliset tekijät voivat vaikuttaa merkittävästi tarkkaavaisuusvinoumien ja niihin yhteydessä olevan sosioemotionaalisen kehityksen suuntaan ja siihen, toimivatko ne suojelevana tekijänä vai negatiivista kehitystä edistävänä tekijänä.

## 1.2 Mikrobiomi-suolisto-aivot-akseli

Omien solujemme lisäksi kehossamme on arviolta noin 1.3-kertainen määrä mikrobeja (Sender ym., 2016). Nämä mikrobit ja niiden genomi muodostavat ihmisen mikrobiomin, joka koostuu bakteereista, arkeoneista, sienistä, alkueliöistä ja viruksista. Vaikka mikrobeja on ympäri kehoamme, on suuri osa mikrobistostamme suolistossamme. Suurin osa tutkimuksesta keskittyy bakteereihin ja niiden tuottamiin molekyyliihin, jotka ovat keskiössä myös tässä tutkimuksessa. Ihminen on siis kehittynyt yhteisevoluutiivisesti mikrobien kanssa ja altistumme niille vähintäänkin syntymästä lähtien, joten myös anatomiset ja fysiologiset mekanismit, mukaan lukien aivomme, kehittyvät tämän vuorovaikutuksen alaisena eikä elimistömme monelta osin kehittyisi normaalisti ilman mikrobeja (Cryan ym., 2019). Suoliston, sen mikrobiston ja aivojen vastavuoroisia yhteyksiä tarkasteltaessa voidaan puhua mikrobiomi-suolisto-aivot-akselista.

### 1.2.1 Suolistomikrobiomin kehitys ja koostumukseen vaikuttavia tekijöitä

Ihmisen mikrobiomin lajisto koostuu pääosin *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* ja *Bacteroidetes* pääjaksojen bakteereista (Hugon ym., 2015). Mikrobiomimme on kuitenkin dynaaminen kokonaisuus, jonka koostumukseen vaikuttavat yksilölliset ja ympäristöön liittyvät tekijät. Ensimmäisinä ikävuosina suolistomikrobiston koostumuksen muutos, diversiteetin kasvu ja alttius ulkoisten tekijöiden pitkäkestoisille vaikutuksille koostumukseen on erityisen voimakasta (Roswall ym., 2021). Rintaruokinnan lopettaminen on ratkaiseva vaihe mikrobiston koostumuksen kehityksessä ja kypsymisessä, ja sen jälkeen koostumuksen muutoksen tahti rauhoittuu (Bäckhed ym., 2015; Stewart ym., 2018), mutta koostumus ei ole vielä vanhemmillakaan lapsilla täysin aikuismainen (Hollister ym., 2015; Roswall ym., 2021).

Varhaislapsuus on tärkeää ja ympäristön altistuksille, muutoksille ja häiriöille herkkää aikaa sekä mikrobistomme että aivojemme kehityksessä. Ensimmäisinä ikävuosina hermostollisten yhteyksien muokkaantuminen on suurta (synaptogeneesi, synapsien karsinta, myelinisaatio jne.), millä voi olla kauaskantoiset vaikutukset aivojen toimintaan. Eläintutkimuksista on saatu näyttöä eräänlaisista herkkyyskausista myös mikrobiomi-suolisto-aivot-akselin kehityksessä, jolloin mikrobiomin ja sen muutosten vaikutus aivojemme ja käytöksemme kehitykseen on erityisen suuri (Neufeld ym., 2011; Sudo ym. 2004). Osoituksena tästä mikrobittomien hiirten kohonnut hypotalamus-aivolisäkelisämunuaisakselin stressireaktio korjaantui mikrobeille altistamisen jälkeen vain, jos se toteutettiin riittävän varhain (Sudo ym., 2004). Varhaislapsuudessa on mahdollisesti useampia tällaisia herkkyyskausia ja varhaislapsuuden kehittyvällä suolistomikrobiomilla on ehdotettu olevan muita ikäkausia suurempi merkitys mikrobiomin myöhempään tasapainotilaan sekä aivojemme kehitykseen ja toimintaan jopa aikuisuuteen asti (Litvak & Bäumlner 2019; Neufeld ym., 2011 Sudo ym., 2004). Neufeld ja kumppanit (2011) totesivat esimerkiksi, että mikrobittomilla hiirillä todettu vähentynyt ahdistuskäyttäytyminen oli vielä havaittavissa aikuisena mikrobeille altistetuilla eli kolonisoiduilla hiirillä.

Toisaalta suolistomikrobiomimme on koko elinikämme jossain määrin plastinen ja ympäristömme, kokemuksemme ja elintapamme vaikuttavat sen koostumukseen. Myös geneettiset tekijät voivat vaikuttaa yksilön suolistomikrobistoon, sillä ihmisillä on havaittu perinnöllistä vaihtelua mikrobistossa (Goodrich ym., 2016). Ympäristötekijöillä on mikrobiston kehitykselle kuitenkin suurempi merkitys (Rothschild ym., 2018). Mikrobiomin varhaiseen kehitykseen on yhteydessä raskauden ja synnytyksen ajalta muun muassa äidin raskaudenaikainen ruokavalio (Buffington ym., 2016), raskaudenaikainen stressi (Aatsinki ym., 2020), raskausviikot syntyessä (Fouhy ym., 2019) ja synnytystapa (Fouhy ym., 2019; Stewart ym., 2018). Nämä tekijät voivat vaikuttaa mikrobiomiin ja

erilaisiin siihen yhteydessä oleviin fysiologisiin ja psyykkisiin tekijöihin myös aikuisiällä (Dinan ym., 2022). Syntymän jälkeiseen mikrobiomin koostumukseen vaikuttavat muun muassa varhaislapsuuden ruokintamuoto (Stewart ym., 2018), ravinto läpi elämän sekä ympäristötekijät, kuten asuinympäristö (asuinmaa, kaupunki tai maaseutu) (De Filippo ym., 2017), lemmikit (Tun ym., 2017), antibioottien käyttö (Dethlefsen & Relman 2011; Slykerman ym., 2017) ja elämäntapahtumat, kuten sairastuminen tai stressi (Callaghan ym., 2020).

Suolistomikrobiomi voi säädellä aivojen kehitystä ja toimintaa muun muassa hermostollisia, immunologisia, endokriinisiä ja aineenvaihdunnallisia reittejä pitkin (Cryan ym., 2019). Mikrobit tuottavat aineenvaihdunnassaan monia yhdisteitä, jotka voivat muokata ja säädellä kehomme solujen toimintaa ja signalointia. Lyhytketjuiset rasvahapot ovat tärkeitä suolistomikrobiomimme aineenvaihduntatuotteita, joiden vaikutuksia fysiologiaamme on tutkittu paljon.

### *1.2.2 Lyhytketjuiset rasvahapot suolistomikrobiomin ja aivojen yhteyden välittäjinä*

Lyhytketjuiset rasvahapot ovat pieniä monokarbonsyylisiä orgaanisia happoja, joiden hiiliketjun pituus on 1–6 hiilen mittainen (Wong ym., 2006). Niitä syntyy erityisesti pilkkoutumattomien hiilihydraattien, kuten kuitujen ja sulamattoman tärkkelyksen sekä lisäksi proteiinien ja aminohappojen fermentoituessa suolistossa (Cummings ym., 1987; MacFarlane ym., 1986). Bakteerit tuottavat suurimmaksi osaksi asetaattia, butyraattia ja proprionaattia. Lisäksi ne tuottavat pienemmissä määrin myös muita lyhytketjuisiksi rasvahapoiksi luokiteltavia molekyylejä, kuten formaattia ja valeraattia sekä haarautuneita lyhytketjuisia rasvahappoja, isobutyraattia ja isovaleraattia. Suurin osa rasvahapoista käytetään suoliston tai maksan soluissa energian lähteenä ja vain pieni osa päätyy perifeerisiin kudoksiin verenkierron kautta.

Lyhytketjuiset rasvahapot voivat säädellä kehomme solujen toimintaa aktivoimalla eri puolilta kehoa löytyviä G-proteiinikytkettyjä reseptoreita, joita ilmenee myös aivoissa (Le Poul ym., 2003; Uhlén ym., 2015). Tämän lisäksi niiden on todettu kulkeutuvan solujen sisälle ja säätelevän geeniekspressiota (Hinnenbusch ym., 2002). Näitä mekanismeja pitkin ne voivat vaikuttaa kehossa laajasti esimerkiksi suoliston eheyteen ja toimintaan (Reigstad ym., 2015; Yan & Ajuwon, 2017), aineenvaihduntaan ja endokriiniseen toimintaan (Kimura ym., 2013; Reigstad ym., 2015) sekä immuunijärjestelmän toimintaan (Arpaia ym., 2013; Vinolo ym., 2011). Lisäksi rasvahapot voivat säädellä myös aivojen toimintaa. Ne pystyvät läpäisemään veriaivoesteen (Oldendorf 1973), joten niiden vaikutukset voivat mahdollisesti kohdistua suoraan aivojen soluihin (Chen, ym., 2019; Frost ym., 2014) tai esimerkiksi aivoja ympäröivien verisuonten endoteelisoluihin (Braniste ym., 2014).

Aivoselkäydinnesteestä on löydetty pieniä pitoisuuksia lyhytketjuisia rasvahappoja (Human Metabolome Database, <https://hmdb.ca>), mutta koska suolistossa syntyvistä lyhytketjuisista rasvahapoista vain hyvin pieni osa päätyy verenkiertoon aivoista puhumattakaan, voivat vaikutukset aivoihin välittyä pääosin epäsuorasti endokriinisiä, hermostollisia ja immunologisia reittejä pitkin. Mahdollisia vaikutuksia voidaan nähdä muun muassa hermo- ja tukisolujen kehityksessä (Erny ym., 2015; Yang ym. 2020), veriaivoesteen läpäisevyydessä (Braniste ym., 2014), hermovälityksessä (Wu ym., 2020), synaptisessa plastisuudessa (Saw ym., 2020), aivojen immunologisissa toiminnoissa (Patnala ym., 2017) ja hypothalamus-aivolisäke-lisämunuaisakselin toiminnassa (van de Wouw ym., 2018). Aivojen kehitystä ja toimintaa säätelemällä ne voivat vaikuttaa esimerkiksi kognitiivisiin toimintoihin (Vinarskaya ym., 2021) sekä stressireaktioihin ja mielialaan tai ahdistuneisuuteen (Dalile ym., 2020; van de Wouw ym., 2018). Mahdollisuutta hyödyntää lyhytketjuisia rasvahappoja tai niiden tuotantoa lisääviä kuituja ja mikrobeja erilaisten neurologisten ja neuropsykiatristen häiriöiden hoidossa ja oireiden lievittämisessä tutkitaan jatkuvasti sekä eläinmalleilla että ihmisillä (Burokas ym., 2017; Fernando ym., 2020; Wang ym., 2020).

### *1.2.3 Alfadiversiteetti monimuotoisuuden mittarina*

Kuvaamalla mikrobiyhteisön monimuotoisuutta saadaan käsitystä yhteisön rakenteesta ja sen mahdollisesta muutoksesta erilaisissa ympäristöissä, joita voivat olla esimerkiksi eri alueet kehossa, eri otokset tai eri yksilöt (Shade, 2017). Kokonaisdiversiteetti voidaan jakaa alfadiversiteettiin ja betadiversiteettiin (Tuomisto, 2010). Alfadiversiteetti kuvastaa yhteisön sisäistä monimuotoisuutta eli esimerkiksi tässä tutkimuksessa yksittäisen lapsen suolistomikrobiston monimuotoisuutta. Mikrobiston rikkaus kertoo mikrobiyhteisön lajimäärästä, kun taas alfadiversiteetti huomioi lisäksi myös lajien suhteelliset runsaudet. Betadiversiteetti puolestaan kuvastaa eri yhteisöjen heterogeenisyyttä eli esimerkiksi eri lasten suolistomikrobistojen erilaisuutta.

Suolistomikrobiston alfadiversiteetti on mikrobiyhteisön ominaisuus, jonka suuruus ei itsessään ole hyvä tai huono mikrobiston tai isännän kannalta (Shade, 2017). Suolistomikrobiston vaikutus ihmiseen tai mikrobiston vasteet erilaisiin ympäristötekijöihin riippuvat tilannekohtaisesti myös kunkin yhteisön koostumuksesta ja toiminnallisuudesta sekä monimutkaisista vuorovaikutussuhteista yhteisön sisällä sekä ympäristönsä kanssa. Suolistomikrobiston alfadiversiteetin on joka tapauksessa aiemmissa tutkimuksissa havaittu olevan yhteydessä mm. lasten sosioemotionaalisen käytökseen ja tiedonkäsittelyyn (Aatsinki ym., 2019; Carlson ym., 2018).

#### *1.2.4 Suolistomikrobiomi ja sosioemotionaalinen prosessointi*

Näyttöä suolistomikrobiomin ja sosioemotionaalisen prosessoinnin yhteyksistä on saatu ensin eläintutkimuksista. Mikrobittomilla jyrksijöillä on todettu aivojen rakenteen ja toiminnan poikkeamia, jotka ulottuvat myös emotionaalista ja sosiaalista tietoa käsitteleviin alueisiin ja sitä kautta käyttäytymiseemme. Muun muassa näyttö mikrobittomien hiirten mantelimumakkeen ja aivoturson rakenteen ja (Luczynski ym., 2016) mantelimumakkeen geeniekspression säätelyn poikkeamista (Hoban ym., 2018; Stilling ym., 2018) tukee mikrobiomin kausaalista merkitystä osana aivojen ja monimutkaisen käytöksen kehitystä. Lisäksi mikrobittomien koirashiirten hippokampuksen serotoniinitasot ovat alentuneet samalla kun serotoniinin esiasteen tryptofaanin pitoisuus plasmassa on koholla, viitaten siihen, ettei sitä muokata normaalisti serotoniiniksi (Clarke ym., 2013). Serotonerginen järjestelmä osallistuu emootioiden ja mielialan säätelyyn sekä sosiaalisen tiedon käsittelyyn (Canli & Lesch, 2007). Myös sosiaaliseen kontaktiin hakeutuminen ja sosiaalinen kognitio on erilaista erityisesti mikrobittomilla koirashiirillä (Desbonnet ym., 2014; Stilling ym., 2018). Nämä poikkeamat normalisoituvat osittain mikrobikolonisaation myötä ja ne ovat yhdistetty mantelimumakkeen geeniekspression muutoksiin. Ihmisen fysiologia ja mikrobisto eroavat kuitenkin rakenteellisesti, toiminnallisesti ja kehityksellisesti eläinten vastaavista. Eläintutkimusten tuloksia ei aina onnistutakaan replikoimaan ihmisillä (Kelly ym., 2017), ja tästä syystä on tärkeää tutkia suoraan mikrobiston vaikutusta ihmiseen.

Yhteyksiä sosioemotionaaliseen toimintaan onkin havaittu myös ihmisillä. Vaikka Tillisch ym. (2017) eivät voineet osoittaa suoria yhteyksiä mikrobien ja aivojen rakenteen välillä, antoivat heidän löydöksensä viitteitä mikrobien mahdollisesta vaikutuksesta emotionaaliseen reaktiivisuuteen ja tunteiden säätelyyn. Terveet naiset pystyttiin jakamaan mikrobikoostumuksen mukaan kahteen ryhmään, jotka erosivat harmaan ja valkoisen aineen rakenteen ja yhteyksien osalta emootioiden prosessointiin liittyvillä aivoalueilla. Lisäksi naiset erosivat aivoturson aktivoitumisen ja negatiivisen emotionaalisen reaktiivisuuden suhteen. Saman ryhmän aiemmassa tutkimuksessa terveille aikuisille naisille annettiin 4 viikon ajan probiootteja sisältävää maitotuotetta, jonka jälkeen aivojen aktivoitumista emotionaalisia kasvoja katsottaessa mitattiin toiminnallisella magneettikuvauksella (Tillisch ym., 2013). Tulosten perusteella maitotuote alensi naisten aktivaatiota vihaisia ja pelokkaita kasvoja katsottaessa insulassa, somatosensorisilla aivoalueilla ja mantelimumakkeessa kontrolliryhmiin verrattuna.

Viime vuosina on saatu myös alustavaa kehityksellistä tietoa suolistomikrobiomin koostumuksen ja diversiteetin vaikutuksesta aivojen toimintaan lapsilla. Myös yhteyksiä lasten sosioemotionaaliseen

kehitykseen ja persoonallisuuden piirteisiin on havaittu. Sordillo ja kumppanit (2019) muun muassa havaitsivat mikrobikoostumuksen 3–6 kuukauden ikäisenä olevan yhteydessä vuorovaikutustaitojen ja hienomotoriikan kehitykseen kolmen vuoden iässä. Gao ym. (2019) puolestaan tutkivat lasten aivojen lepotilan aikaisia toiminnallisia yhteyksiä ja havaitsivat alfadiversiteetin korreloivan negatiivisesti emootioiden ja erityisesti uhan ja pelon prosessointiin liitettyjen aivoalueiden (manteliumake-näkökukkula, etummainen pihtipoimu, etummainen insula) välisen konnektiivisuuden kanssa. Tämä tutkimustulos viittaa suolistomikrobiomin ja pelon prosessoinnin mahdolliseen yhteyteen. Tätä tukee näyttö suolistomikrobiomin yhteydestä temperamenttiin. Temperamentti vaikuttaa muun muassa emotionaalisesti merkityksellisten asioiden arviointiin ja niihin suuntautumiseen ja reagoimiseen. Mikrobikoostumuksen, mikrobiston diversiteetin ja temperamentin väliltä on löydetty osin sukupuolikohtaisia yhteyksiä kuten negatiivinen yhteys alfadiversiteetin sekä negatiivisen emotionaalisuuden ja pelkoreaktiivisuuden välillä (Aatsinki ym., 2019) sekä positiivinen yhteys tyttöjen pelokkuuden ja *Rikenellaceae*-bakteerisuvun sekä beta-diversiteetin välillä (Christian ym., 2015).

Emotionaalisten kasvojen prosessoinnin yhteyttä suolistomikrobiomiin on tutkittu lapsilla suuremminkin. Callaghan ja kumppanit (2020) vertasivat sijoitettujen tai adoptoitujen lasten ja biologisten vanhempinsa kanssa kasvaneiden lasten suolistomikrobiomin koostumusta sekä emotionaalisten kasvojen prosessointia. He havaitsivat eroja suolistomikrobiston koostumuksessa näiden ryhmien välillä, ja että mikrobiston koostumus oli yhteydessä emotionaaliseen prosessointiin liitettyjen aivoalueiden aktivoitumiseen emotionaalisia kasvoja katsottaessa. Tämä viittaa siihen, että mikrobit voisivat välittää vaikutusta varhaislapsuudessa koetun psykososiaalisen stressin ja emootioiden prosessoinnin välillä. Lisäksi FinnBrain-kohortin kahdeksan kuukauden ikäisenä arvioidun kasvojen prosessoinnin ja 2,5 kuukauden ikäisenä arvioidun suolistomikrobiomin diversiteetin välillä ei havaittu merkitsevää korrelaatioita molemmilla sukupuolilla, mutta poikien suolistomikrobiomin rikkaus ja pelkovinouma korreloivat keskenään negatiivisesti (Tarro, 2020). Pelkovinouma oli kahdeksan kuukauden ikäpisteessä myös negatiivisesti yhteydessä *Bifidobacterium*-, *Lactobacillus*- ja *Prevotella*-bakteerisukujen esiintymistiheyteen sekä positiivisesti yhteydessä *Clostridium*-bakteerisuvun esiintymistiheyteen (Aatsinki ym. 2022).

Lisääntyvä määrä tutkimuksia on siis osoittanut yhteyksiä suolistomikrobiomin ja aivojen kehityksen sekä sosioemotionaalisen toiminnan välillä. Lyhytketjuiset rasvahapot voisivat olla yksi monista mikrobiologisista linkeistä luultavasti monimutkaisessa kokonaisuudessa, joka näitä yhteyksiä välittää. Epäsuoraa tukea tähän saadaan muun muassa prebioottitutkimuksista, joissa on käytetty kuitulisiä, jotka voivat lisätä lyhytketjuisten rasvahappojen tuotantoa. Burokas ym. (2017) antoivat

hiirille kuitulisää ennen niiden altistamista psykososiaaliselle stressille ja havaitsivat tämän suojelevan niitä osin stressin vaikutuksilta suolistomikrobiomiin, lievittävän hiirten stressivastetta, sekä ahdistus- ja masennusoireita. Vastaavia ahdistuskäyttäytymistä lieventäviä sekä lisäksi sosiaalisuutta lisääviä vaikutuksia havaittiin myös syntymästä lähtien pitkäkestoisesti prebioottilisää saaneilla hiirillä kontroleihin verrattuna (Szkłany ym., 2020). Muutokset olivat molemmissa tapauksissa yhteydessä lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien muutoksiin. Prebioottitutkimukset eivät kuitenkaan kerro suoraan, ovatko lyhytketjuiset rasvahapot välittäneet havaittuja vaikutuksia. Jotkin tutkimusryhmät ovatkin testanneet suoraan lyhytketjuisten rasvahappolisien vaikutuksia. Lyhytketjuiset rasvahapot muun muassa säätelivät hiirten ahdistus- ja masennuskäyttäytymistä (van de Wouw ym., 2018) sekä terveillä miehillä psykologiseen stressiin liittyvää kortisolivastetta (Dalile ym., 2020).

Sekä eläintutkimuksista että ihmisillä tehdyistä tutkimuksista on saatu näyttöä suolistomikrobiomin merkityksestä tunneprosessien fysiologisten ja käytöksen tason vasteiden sekä sosiaalisuuden säätelyssä. Tieto erityisesti lasten emotionaalisen tarkkaavaisuuden kehityksen ja suolistomikrobiomin yhteyksistä sekä lyhytketjuisten rasvahappojen merkityksestä tätä yhteyttä mahdollisesti välittävänä tekijänä on kuitenkin puutteellista.

### 1.3 Tutkimuskysymykset ja hypoteesit

Varhaislapsuus on kehityksellisesti herkkää ja toisaalta muokkaantuvaa aikaa, jonka aikaiset yksilölliset erot emotionaalisisessa tarkkaavaisuudessa voivat antaa viitteitä myös myöhemmästä kehityksestä ja mahdollisista riskeistä epäsuotuisalle kehityskululle. Tästä syystä on tärkeää ymmärtää varhaisen emotionaalisen tarkkaavaisuuden taustalla olevia mekanismeja sekä niiden toimintaa sääteleviä tekijöitä. Tämä tutkimus on osa FinnBrain-hanketta, jonka kahdeksan kuukauden ikäpisteen tulokset (Aatsinki ym., 2022; Tarro 2020, kts. osio 1.2.4) viittaavat alustavasti suolistomikrobiomin koostumuksen ja emotionaaliseen tarkkaavaisuuden väliseen yhteyteen. Sekä suolistomikrobiomin koostumuksessa että kasvojen prosessoinnissa tapahtuu kuitenkin iän myötä muutoksia (Nakagawa & Sukigara 2012; Peltola ym., 2018; Stewart ym., 2018). Onkin epäselvää, millaisena yhteys näyttäytyy eri ikävaiheissa, sekä millaiset tekijät tätä yhteyttä mahdollisesti välittävät. Tässä pro gradu -tutkielmassa on tarkoituksena selvittää, ovatko suolistomikrobiomin diversiteetti sekä mikrobien aineenvaihdunnassa syntyvät lyhytketjuiset rasvahapot yhteydessä 30 kuukauden ikäisten lasten emotionaalisten kasvojen prosessointiin. Päämuuttujina ovat suolistomikrobiomin osalta alfadiversiteetti (mittarina Shannon-indeksi) sekä kuuden lyhytketjuisen rasvahapon (asetaaatti, butyraatti, propionaatti, valeraatti, isobutyraatti, isovaleraatti) pitoisuudet ulosteessa. Kasvojen prosessoinnin osalta tarkastellaan tarkkaavaisuuden irrottamisen

todennäköisyyksiä neutraaleista, iloisista ja pelokkaista kasvokuvista sekä kontrollikuvista sekä niiden pohjalta laskettuja ilmekohtaisia kasvojen prosessointivivoumia. Koska aihealue on vielä huonosti tunnettu, on tämän tutkimuksen tarkoituksena alustavasti kartoittaa näitä yhteyksiä.

Tutkimuskysymykset ovat:

1. Onko suolistomikrobiomin alfadiversiteetti yhteydessä ilmekohtaiseen kasvoihin suuntautuvaan tarkkaavaisuuteen?

Mikrobiston diversiteetti kasvaa pienillä lapsilla iän myötä ja suurempi alfadiversiteetti on yhdistetty suolistomikrobiston kypsyyteen (Roswall ym., 2021; Stewart ym., 2018). Alentunut diversiteetti onkin yhdistetty erilaisiin sairaustiloihin sekä lapsilla että aikuisilla (Kostic ym., 2015; Kriss ym., 2018). Suuremman diversiteetin merkitys lapsilla ei kuitenkaan ole yksiselitteinen, sillä terveillä lapsilla korkeampi alfadiversiteetti 1-vuotiaana on yhdistetty muun muassa huonompaan kognitiiviseen suoriutumiseen 2-vuotiaana (Carlson ym., 2018) sekä alhaisempaan konnektiivisuuteen emootioiden prosessointiin ja säätelyyn liitettyjen aivoalueiden välillä (Gao ym., 2019). Haasteet emootioiden säätelyssä voisivat puolestaan näyttäytyä myös kasvoihin suuntautuneen tarkkaavaisuuden poikkeamina, kuten tiettyjen ilmeiden pitkittyneenä tai lyhentyneenä prosessointina. Suoraan yhteyttä emotionaaliseen tarkkaavaisuuteen on tutkittu alle vuoden ikäisillä lapsilla, jolloin yhteyttä ei havaittu (Aatsinki ym., 2020a; Tarro, 2020). Mahdolliset yhteydet alfadiversiteettiin voisivat olla tässä ikäpisteessä suolistomikrobiston muutoksen tasoituttua ja emootioiden prosessoinnin kehittymisen myötä ilmekohtaisesti erisuuntaisia.

2. Onko lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja emotionaalisten kasvojen prosessoinnin välillä yhteyttä?

Tätä aihetta ei ole tietääkseni aiemmin tutkittu lapsista koostuvassa otoksessa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on kartoittaa, ovatko nämä tekijät ylipäätään toisiinsa yhteydessä, mutta yleisellä tasolla lyhytketjuisten rasvahappojen on havaittu välittävän ravinnon ja suolistomikrobien positiivisia vaikutuksia hyvinvointiin ja myös viitteitä positiivisista vaikutuksista kognitiivisiin, sosiaalisiin ja emotionaalisiin toimintoihin on havaittu.



### 3. Moderoiko sukupuoli rasvahappojen yhteyttä kasvojen prosessointiin?

Aivojen kehityksessä tiedetään olevan sukupuolittaisia biologisia eroja (Lenroot ym. 2007). Sekä eläimillä että ihmisillä on huomattu osittain sukupuolispesifejä trendejä sekä suolistomikrobiomin vaikutuksissa aivojen kehitykseen ja toimintaan että emootioiden prosessoinnissa (Jaggar ym., 2020; Kataja ym., 2019; Kret 2012). Erot ovat mahdollisesti yhteydessä sukupuolihormoneihin sekä geeneihin ja ympäristötekijöihin. Tulokset sukupuolieroista ovat kuitenkin osin ristiriitaisia (Jaggar ym., 2020). Clarke ym. (2013) havaitsivat merkitseviä eroja muun muassa hippokampuksen serotoniinin pitoisuuksissa mikrobiomittomien ja tavallisten hiirten välillä vain koirashiirillä. Mikrobittomuus tai varhaisen mikrobiston häiriintymistä aiheuttavat tekijät ovat joissain eläintutkimuksissa vaikuttaneet selkeämmin koiraisiin mikrobiston muutosten, fysiologisten muutosten ja käyttäytymisen tasolla (Clarke ym., 2013; Jašarević ym., 2017). On siis mahdollista, että miehet ovat herkempiä varhaisille mikrobiston vaikutuksille. Toisaalta antibiootit vaikuttivat laajemmin naarashiirten mikrobistoon kuin koiraiden ja esimerkiksi lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuudet olivat vahvemmin yhteydessä mikrobistoon naarailta (Gao ym., 2019). Myös sosioemotionaaliossa kehityksessä on havaittu sukupuolikohtaisia eroja. Esimerkiksi kasvatusympäristöltään kontrolloiduissa olosuhteissa kasvaneet naarasmakakit ovat sosiaalisesti suuntautuneempia ja sensitiivisempiä sosiaalisille signaaleille kuin koiraat, eli erilaisella sosiaalisella motivaatiolla on mahdollisesti biologinen tausta (Simpson ym., 2016). Myös FinnBrain-kohortissa on aiemmin havaittu sukupuolieroja kasvojen prosessointiin liittyvissä tuloksissa. Äidin ahdistusoireet olivat eri tavalla yhteydessä poikien ja tyttöjen emotionaalisten kasvojen prosessointiin (Kataja ym., 2019) ja suolistomikrobiston koostumuksen ja yleisen kasvoihin suuntautuneen tarkkaavaisuuden väliset yhteydet olivat osin erilaisia sukupuolittain (Aatsinki ym., 2022). Tässäkin tutkimuksessa onkin tärkeää huomioida mahdolliset sukupuolierot.

## 2 MENETELMÄT

### 2.1 Tutkittavat

**FinnBrain-kohortti** Tutkittavat ovat osa FinnBrain-syntymäkohorttitutkimusta, joka selvittää ympäristön ja perimän vaikutusta lapsen kehitykseen raskausajasta lähtien (Karlsson ym., 2018). Hankkeella, ja sen kaikilla osatutkimuksilla, on Varsinais-Suomen sairaanhoitopiirin eettisen toimikunnan hyväksyntä. Erityisenä kiinnostuksen kohteena on varhaisen stressin yhteys lapsen aivojen, itsesäätelyn ja terveyden kehitykseen. Osallistujat (äidit n = 3808, kumppanit n = 2623, lapset

n = 3837) on rekrytoitu 12. raskausviikon ultraäänitutkimuksen yhteydessä Turun seudun ja Ahvenanmaan alueilla joulukuusta 2011 alkaen huhtikuuhun 2015 asti. Äidit täyttivät kirjallisen suostumuksen tutkimukseen osallistumisesta itsensä sekä lapsensa puolesta. Aineisto edustaa hyvin alueen yleistä väestöpohjaa (Karlsson ym., 2018). Kohorttiaineiston sisään on muodostettu nk. ”fokuskohortti” raskauden aikaisen psyykkisen stressin kehityksellisten vaikutusten tutkimiseksi. Fokuskohortti koostuu niistä perheistä, joiden äidit ovat raskausaikana raportoineet eniten raskauteen liittyviä ahdistusoireita, masennusoireita ja/tai yleisiä ahdistusoireita (koko kohortin ylin n. 20 %), sekä heidän vähiten oireita raportoineista verrokeistaan (koko kohortin alin n. 27 %). Raskauteen liittyviä ahdistuneisuusoireita kartoitettiin Pregnancy-Related Anxiety Questionnaire-Revised 2 -kyselyllä (PRAQ-R2, Huizink ym., 2016) raskausviikoilla 14, 24 ja 34. Masennusoireita kartoitettiin Edinburgh Depressive Scale -kyselyllä (EPDS, Cox ym., 1987) ja yleisiä ahdistuneisuusoireita Symptom Checklist-90 -kyselyn (SCL-90) ahdistuneisuusosiolla (Holi ym., 1998) raskausviikoilla 14, 24 ja 34. Raskausajan lisäksi masennus- ja ahdistusoireita kartoitettiin lapsen ollessa 3, 6, 12 ja 24 kuukautta. Lisäksi äideiltä kerättiin tieto koulutustasosta, äidin raskaudenaikaisesta SSRI- tai SNRI-lääkkeiden käytöstä, imetyksen kestosta, asuinpaikasta (maaseutu tai kaupunki), lemmikeistä ja sisaruksista. Tiedot lapsen syntymäpainosta ja pituudesta, synnytystavasta ja antibioottien käytöstä saatiin Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen Syntymärekisteristä.

**30 kuukauden ikäisten aineisto** Ulostenäytteet on kerätty ikäpisteen lastenlääkäritutkimuskäynneillä noin 30 kuukauden iässä. Silmänliikemittaukset puolestaan olivat osa ikäpisteen kehityspsykologisia tutkimuskäyntejä, jotka joko valmistuneet psykologit tai Turun yliopiston loppuvaiheen opiskelijat toteuttivat. Tämän tutkimuksen populaatio on muodostettu sellaisista 30 kuukauden ikäpisteen lapsista, joiden ulostenäytteestä on analysoitu sekä alfadiversiteetti että lyhytkejuisten rasvahappojen pitoisuudet, ja joille on lisäksi tehty onnistuneesti silmänliikemittaukset kasvojen prosessoinnin tutkimiseksi (jokaista kasvoärsykettä kohden onnistuneita esityskertoja oli vähintään kolme), jolloin n = 106. Osa lapsista kuului fokuskohorttiin, mutta aineistoa on myös rikastettu fokuskohortin ulkopuolisilla aktiivisesti tutkimuskäynneille osallistuneilla perheillä. Yhdeltä lapselta puuttui tieto valeraatin pitoisuudesta, joten lopullinen tutkimuspopulaatio oli n = 105 (54 poikaa, 51 tyttöä). Lapsista 69 (65.7 %) kuului fokuskohorttiin siten, että 20:n (19.0 %) lapsen äiti oli voimakkaan stressin ryhmässä ja 49:n (46.7 %) lievän stressin ryhmässä. Loput 36 (34.3 %) lasta olivat joko fokuskohortin ulkopuolelta tai luokittelu ryhmiin ei ole ollut mahdollista puuttuvan datan takia.

## 2.2 Emotionaalisten kasvojen prosessointi

Kasvoihin suuntautuvaa tarkkaavaisuutta arvioitiin silmänliikemittauksilla, jotka on toteutettu EyeLink1000+ -silmänliikerekameralla (SR Research Ltd, Toronto, Ontario, Kanada). Kasvoärsykkeet

näytettiin lapsille 17” View Sonic P775 -näytöltä 200 MHz:n Pentium II -tietokoneella. Mittauksen aikana lapsi istui vanhemman sylissä 50–70 senttimetrin etäisyydellä kamerasta. Näytteenkeräystaajuus oli 500 Hz.

Silmänliikekokeessa käytettiin lapsille erikseen kehitettyä overlap-asetelmaa (Aslin & Salapatek, 1975; Peltola ym. 2009). Lapsen katse kohdistettiin ensin tietokoneen näytön keskelle fiksaatioärsykkeellä ennen jokaista varsinaista ärsykettä. Fiksaatioärsykkeenä toimi lyhyt animaatio ja ääni. Kun katse oli tutkijan tai tutkimusavustajan arvion mukaan kohdistunut näytöllä näkyvään animaatioon, esitettiin näytön keskellä kasvoärsyke eli joko naisen neutraalit, iloiset tai pelokkaat kasvot tai kontrolliärsyke eli kasvojen mallinen sumennettu kuva yhteensä 4000 millisekunnin ajan. Kuvia esitettiin yhteensä 24 niin, että jokainen ilme ja kontrolliärsyke esitettiin kukin kuusi kertaa. Kun ensimmäisen ärsykkeen esittämisestä oli kulunut 1000 millisekuntia, esitettiin kasvoärsykkeen oikealla tai vasemmalla puolella 13.6 asteen kulmassa samanaikaisesti 3000 millisekunnin ajan lapsen tarkkaavaisuutta pois kasvoista houkutteleva vilkkuva häiriöärsyke (joko shakkikuvio tai ympyröitä). Kasvoärsykkeiden esittämisjärjestys oli puolisolunnaistettu (sama kasvoärsyke ei saanut esiintyä yli kolmea kertaa peräkkäin) kuten myös häiriöärsykkeen esittämisen puoli (yhtä monta kertaa oikealle ja vasemmalle puolelle). Silmänliikemittauksista laskettiin sekä keskiarvoinen todennäköisyys katseen siirtymiselle häiriöärsykkeeseen kussakin ärsykekategoriassa että katseen siirtymiseen kulunut reaktioaika. Tässä tutkimuksessa on käytetty katseen irrottamisen todennäköisyys -muuttujaa (disengagement probability, DP, 0–1).

Todennäköisyys irrottaa katse kasvoärsykkeestä häiriöärsykkeeseen laskettiin kullekin ärsyketypille ja lapselle erikseen jakamalla katseen siirtymien lukumäärä validien mittausten lukumäärällä. *Pelkovinouma* on aiemmin laskettu vertaamalla pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyttä neutraaleista ja iloisista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyksien keskiarvoon ( $pelkovinouma = (DP_{neutraali} + DP_{iloinen}) / 2 - DP_{pelokas}$ ). FinnBrainin 30 kuukauden koko silmänliikeaineistolla (n = 336) tehdyssä pro gradu -tutkielmassa (Paija, 2020) huomattiin kuitenkin lasten kasvojen prosessoinnin muuttuneen tässä ikäpisteessä aiempaan 8 kuukauden ikäpisteeseen verrattuna. Neutraalit kasvot eivät vertautuneet iloiseihin, sillä irrottautuminen niistä oli epätodennäköisempää kuin iloisista kasvoista. Lisäksi katseen siirtyminen iloisista kasvoista ei juurikaan eronnut kontrolliärsykkeestä siirtymisestä. Samankaltainen löydös iloisten kasvojen ja kontrolliärsykkeen katseluajan suhteen havaittiin myös Leppäsen ym. (2018) tutkimuksessa 36 kuukauden ikäisillä lapsilla. Tämän tutkielman aineisto koostuu karsittuna samasta silmänliikeaineistosta kuin Paijan 30 kuukauden ikäpisteen osalta ja samansuuntaiset ilmiöt silmänliikemuuttujien suhteen ovat nähtävissä myös tässä aineistossa (kts. Taulukko 2).

Todennäköisyys irrottaa katse kontrolliärsykkeestä ei eronnut todennäköisyydestä irrottaa katse iloisista kasvoista ( $Z = -1.50$ ,  $p = .13$ ). Kaikki muut todennäköisyydet erosivat tilastollisesti merkitsevästi toisistaan ( $p \leq .003$ ). Tästä syystä jokaiselle ilmeelle laskettiin tässä työssä erikseen oma ”vinoumamuuttujansa” vertaamalla kutakin ilmettä kontrolliärsykkeeseen (esim. ilovinouma = DPkontrolli - DPiloinen). Vinouman positiivinen arvo kuvastaa, että tarkkaavaisuus suuntautuu emotionaalisiin kasvoihin voimakkaammin kuin kontrolliärsykkeeseen, sillä katse irrottautuu ilmeestä kontrollia epätodennäköisemmin häiriöärsykkeeseen.

### 2.3 Suolistomikrobiomin alfadiversiteetti

Vanhemmat keräsivät ulostenäytteet ohjeiden mukaisesti ja merkkasivat näytteenottoajan ja päivämäärän. He säilöivät näytteet välittömästi jääkaappiin sekä toimittivat näytteet analysoitaviksi 24 tunnin sisällä. Näytteistä eristettiin DNA, josta monistettiin mikrobikoostumuksen määrittämiseksi 16S ribosomaalisen RNA:n variaabeli V4-alue, joka sekvensoitiin Illumina MiSeq -järjestelmällä ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)). Sekvenssidata käsiteltiin *DADA2*-paketilla (Callahan ym., 2016) ja datasta määritettiin ASV:t (amplicon sequence variant). ASV-määrittämisessä määritetään yksittäiset sekvenssivariantit ja niiden frekvenssit ja pyritään sitten erottamaan datasta sekvenssivarianttien todennäköisyys olla virheellisiä tai todellisia alkuperäisiä biologisia sekvenssejä niiden frekvenssin ja laatuarvon perusteella. Todennäköisesti virheelliset variantit poistetaan. Mikrobilajien taksonominen määrittäminen ASV-datasta tehtiin käyttäen ribosomaalisen RNA:n sekvenssidataa kokoavaa SILVA-tietokantaa (<https://www.arb-silva.de>; Quast ym., 2013).

Diversiteetti laskettiin määritetyn mikrobikoostumuksen perusteella. Tässä tutkimuksessa keskityttiin alfadiversiteettiin, eli yksittäisen mikrobiyhteisön sisäiseen diversiteettiin tai tässä toisin sanoen yksilökohtaiseen diversiteettiin. Alfadiversiteettiä voidaan kuvata useammanlaisilla mittareilla. Eri mittarit eroavat muun muassa siinä, millä tavalla ne huomioivat tai huomioivatko ne lajirikkauden, lajien suhteelliset osuudet tai fylogeneettiset suhteet, eli kuinka läheistä sukua lajit ovat (Shade, 2017; Tuomisto, 2010). Alfadiversiteettiä kuvattiin tässä tutkimuksessa yleisesti käytetyllä Shannon-indeksillä (Shannon, 1948), joka mittaa epävarmuutta siitä, mitä lajia yhteisöstä satunnaisesti valittu yksilö edustaa. Shannon indeksin kaava on esitetty alla:

$$H = -\sum p_i * \ln(p_i)$$

Kaavassa  $p_i$  kuvastaa lajin  $i$  suhteellista osuutta yhteisön kokonaisrunsaudesta. Shannon-indeksi huomioi siis sekä mikrobiston lajimäärään että suhteelliset osuudet. Mitä suurempi lajimäärä ja mitä tasaisemmat niiden runsaudet, sitä suurempi diversiteettiarvo. Shannon-indeksi laskettiin R-ohjelman *microbiome*-paketilla (Lahti ym., 2019).

## 2.4 Lyhytketjuiset rasvahapot

Ulostenäytteistä analysoitiin myös lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuudet. Analyysi toteutettiin kaasukromatografiaa aineiden erotteluun ja massaspektrometriaa aineiden tunnistukseen hyödyntävällä GC-TOF-MS -menetelmällä (Gas Chromatography Time-of Flight Mass Spectrometry) (mukautettu Trimignon ym. 2017 protokollasta). Proteiinien poistamiseksi näytteistä homogenisoidut ulostenäytteet liuotettiin metanoliin suhteessa 1:10 (uloste:metanoli), nestettä sekoitettiin (1 min), jonka jälkeen proteiinit suodatettiin saostuneiden proteiinien suodattamiseen tarkoitettulla 96-kuoppalevyllä (Sigma-Aldrich, 55263-U). Kaasukromatografia toteutettiin Phenomenex Zebron ZB-WAXplus -kolonnissa (30 m × 250 µm × 0.25 µm). 1 µl näytettä injektoidiin jakoinjektiolla (2:1 jakosuhte) 285 °C:ssa. Virtausnopeus jakoventtiiliin kautta oli 13 ml/min, kun taas virtausnopeus kolonniin oli 3.2 ml/min. Kantajakaasuna käytettiin heliumia (jatkuva virtaus 1,6 ml/min). Kolonniuunissa käytetty ohjelma oli: alkulämpötila 50 °C, tasapainottumisaika 1 min, lämmitys 150 °C:seen (+10 °C minuutissa), lämmitys 230 °C:seen (+40 °C minuutissa), jossa annettiin olla 2 min. Massaspektrometriset mittaukset toteutettiin Selected Ion Monitoring -tilassa. Anturi kytkettiin päälle vasta yhden minuutin kuluttua injektoinnista, jottei liuotinpiikki olisi saturoinut sitä. Siirtoputki kaasukromatografista massaspektrometrin ionilähteelle sekä ionilähde asetettiin 230 °C:seen ja kvadrupoli 150 °C:seen. Standardipitoisuuksien määrittämiseksi rasvahapot laimennettiin konsentraatioihin 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 40 ja 100 miljoonasosaa. Analyysin perusteella näytteissä havaittiin tässä aineistossa asetaattia, butyraattia, propionaattia, valeraattia, isobutyraattia sekä isovaleraattia.

## 2.5 Tilastolliset menetelmät

Tilastollisiin analyyseihin on käytetty IBM SPSS Statistics 27:ää. Päämuuttujien jakaumat eivät pääosin noudattaneet Shapiro–Wilkin normaaliustestauksen ja graafisen tarkastelun perusteella normaalijakaumaa ( $p < .05$ ). Tästä syystä päämuuttujien keskinäisiä yhteyksiä tarkasteltiin Spearmanin järjestyskorrelaatiokertoimilla, kuten myös päämuuttujien yhteyksiä jatkuviin taustamuuttujiin. Päämuuttujien arvojen eroja luokiteltujen taustamuuttujien ryhmien välillä tarkasteltiin luokkien määrästä ja jakaumista riippuen t-testillä tai Mannin–Whitneyn U-testillä tai riippumattomien otosten ANOValla tai Kruskalin–Wallisin testillä. Monivertailut otettiin huomioon Benjamini-Hochberg -menetelmällä siten, että merkitseviksi katsottiin p-arvot, joiden FDR (False Discovery Rate) oli  $<5\%$ . Muuttujien sukupuolten väliset vertailut tehtiin laadullisille muuttujille  $\chi^2$ -testillä ja jatkuville muuttujille joko riippumattomien otosten t-testillä tai Mannin–Whitneyn U -testillä.

Sukupuolen moderoivaa vaikutusta rasvahappojen ja kasvoista irrottautumisen todennäköisyyksien tai rasvahappojen ja kasvojen prosessointivinoimien yhteyksiin tarkasteltiin lineaarisella regressiolla. Mallit olivat muotoa irrottautumistodennäköisyys tai prosessointivinouma = rasvahappo + sukupuoli + sukupuoli \* rasvahappo. Osa rasvahapoista korreloi keskenään (Taulukko 4). Multikollineaarisuuden vuoksi jokaista rasvahappoa onkin tarkasteltu erikseen omassa mallissaan. Regressiota varten selittävät rasvahappomuuttujat muunnettiin joko neliöjuurimuunnoksilla tai logaritmuunnoksilla sekä keskitettiin yhdysvaikutustermiin malliin lisäämisestä syntyvän kollineaarisuuden välttämiseksi. Kasvojen prosessointivinoumat ja katseen irrottamisen todennäköisyysmuuttujat ovat malleissa muuntamattomina.

### 3 TULOKSET

#### 3.1 Taustamuuttujat

Sukupuolen, imetyksen keston, synnytystavan, antibioottien käytön, pitkäaikaissairauksien, lemmikin omistamisen, asuinympäristön sekä äidin koulutustason, aiempien synnytysten, SSRI/SNRI-lääkityksen käytön ja sisarusten lukumäärien frekvenssit on esitetty Taulukossa 1. Keskiarvot ja keskihajonnat on esitetty lapsen syntymäpainolle, raskausviikoille syntyessä sekä äidin iälle synnytyksen aikana ja masennus- ja ahdistusoirekyselyiden raskaudenaikaisille pistemäärille Taulukossa 1. Sukupuolet erosivat toisistaan 24 raskausviikon PRAQ-kyselytulosten osalta ( $t = 2.40$ ,  $p = .02$ ,  $d = 0.48$ ) siten, että poikien äitien summapisteet olivat korkeammat. Kaikki raskauden viimeisen kolmanneksen aikana SSRI/SNRI lääkitystä käyttäneet äidit ( $n = 4$ ) olivat tyttöjen äitejä. Sukupuolet eivät eronneet minkään muiden taustamuuttujien suhteen ( $p > .05$ ).

**Taulukko 1. Taustamuuttujien frekvenssit tai kuvailevat tunnusluvut.**

Taustamuuttuja		Frekvenssit		
		Kaikki	Pojat	Tytöt
<b>Lapset</b>				
Sukupuoli			54 (51.4 %)	51 (48.6 %)
Imetys	Ei tietoa kestosta	1 (1.0 %)		1 (2.0 %)
	Ei täysimetetty	4 (3.9 %)	2 (3.7 %)	2 (4.0 %)
	Täysimetys 1–4 kk, osittain alle 12 kk	20 (19.1 %)	13 (24.1 %)	7 (13.8 %)
	Täysimetys yli 4 kk	80 (76.2 %)	39 (72.2 %)	41 (80.4 %)
Synnytystapa	Vaginaalinen	93 (88.6 %)	49 (90.7 %)	44 (86.3 %)
	Keisarinleikkaus	12 (11.4 %)	5 (9.3 %)	7 (13.7 %)
Antibiootit	Kyllä	12 (11.4 %)	6 (11.1 %)	6 (11.8 %)
	Ei	92 (87.6 %)	47 (87.0 %)	45 (88.2 %)
	Puuttuvia	1 (1.0 %)	1 (1.9 %)	-
Pitkäaikaissairaudet	Ei mitään	101 (96.2 %)	52 (96.3 %)	49 (96.1 %)
	Atooppinen iho	2 (2.0 %)	1 (1.9 %)	1 (2.0 %)
	Herkästi kuivuva iho	1 (1.0 %)	1 (1.9 %)	-
	Kampurajalka	1 (1.0 %)	-	1 (2.0 %)
<b>Äidit</b>				
Koulutus	Peruskoulu	24 (22.9 %)	14 (25.9 %)	10 (19.6 %)
	Ammattikorke.	32 (30.5 %)	16 (29.6 %)	16 (31.4 %)
	Yliopisto	46 (43.8 %)	23 (42.6 %)	23 (45.1 %)
	Puuttuvia	3 (2.9 %)	1 (1.9 %)	2 (3.9 %)
Aiemmat synnytykset	Ensisynnyttäjä	60 (57.1 %)	33 (61.1 %)	27 (52.9 %)
	Ei ensisynnyttäjä	45 (42.9 %)	21 (38.9 %)	24 (47.1 %)
SSRI/SNRI (rp1)	Kyllä	3 (2.9 %)	1 (1.9 %)	2 (3.9 %)
	Ei	97 (92.4 %)	50 (92.6 %)	47 (92.2 %)
	Puuttuvia	5 (4.8 %)	3 (5.6 %)	2 (3.9 %)
SSRI/SNRI (rp3)	Kyllä	4 (3.8 %)	-	4 (7.8 %)
	Ei	97 (92.4 %)	51 (94.4 %)	46 (90.2 %)
	Puuttuvia	4 (3.8 %)	3 (5.6 %)	1 (2.0 %)
<b>Yleiset</b>				
Asuinympäristö	Maaseutu	24 (22.9 %)	14 (25.9 %)	10 (19.6 %)
	Kaupunki	78 (74.3 %)	39 (72.2 %)	39 (76.5 %)
	Puuttuvia	3 (2.9 %)	1 (1.9 %)	2 (3.9 %)
Lemmikit	Kyllä	34 (32.4 %)	20 (37.0 %)	14 (27.5 %)
	Ei	46 (43.8 %)	21 (38.9 %)	25 (49.0 %)
	Puuttuvia	25 (23.8 %)	13 (24.1 %)	12 (23.5 %)
Sisarukset	0	49 (46.7 %)	27 (50.0 %)	22 (43.1 %)
	1-3	40 (38.1 %)	20 (37.0 %)	20 (39.2 %)
	Puuttuvia	16 (15.2 %)	7 (13.0 %)	9 (17.6 %)

	Kaikki		Pojat		Tytöt	
	Ka	Kh	Ka	Kh	Ka	Kh
<b>Lapset</b>						
Syntymäpaino (g)	3529.14	459.15	3551.72	503.55	3505.70	411.68
Raskausviikot syntyessä	39.84	1.29	39.77	1.43	39.91	1.13
<b>Äidit</b>						
Ikä synnyttäessä (v)	30.64	4.23	30.48	4.43	30.80	4.05
SCL-90 summa (rp1)	2.85	3.97	2.63	3.27	3.08	4.64
EPDS summa (rp1)	4.09	3.82	4.06	3.68	4.13	4.01
PRAQ-R2 summa (rp1)	22.86	7.80	24.61	8.10	21.00	7.35
SCL-90 summa (rp2)	3.85	5.31	3.75	4.52	3.96	6.08
EPDS summa (rp2)	4.48	4.52	4.21	4.11	4.76	4.94
PRAQ-R2 summa (rp2)	22.10	6.07	23.48	6.45	20.66	5.34
SCL-90 summa (rp3)	2.82	3.65	3.17	4.00	2.46	3.25
EPDS summa (rp3)	4.35	3.90	4.09	3.40	4.61	4.36
PRAQ-R2 summa (rp3)	22.59	6.51	23.48	7.4	21.69	5.40
SCL-90 summa (3 kk)	2.74	3.69	2.83	3.70	2.65	3.73
EPDS summa (3 kk)	3.93	3.47	4.23	3.68	3.61	3.24
SCL-90 summa (6 kk)	2.88	4.63	2.95	4.70	2.80	4.59
EPDS summa (6 kk)	4.50	4.54	4.76	5.03	4.21	3.93
EPDS summa (1 v.)	5.12	5.24	5.35	5.78	4.85	4.62
SCL-90 summa (2 v.)	3.07	4.15	3.13	4.30	3.01	4.05
EPDS summa (2 v.)	4.46	4.56	4.63	5.28	4.29	3.74

### 3.2 Päämuuttujien tunnusluvut ja sukupuolierot

Keskiarvot ja keskihajonnat kasvojen prosessoinnin ilmekohtaisille vinoumille sekä katseen irrottamisen todennäköisyydelle kasvoärsykkeistä on esitetty Taulukossa 2. Irrottamisen todennäköisyys on suurin kontrolliärsykkeelle ja tämän jälkeen iloisille kasvoille, näitä pienempi neutraaleille kasvoille ja pienin pelokkaille kasvoille. Taulukossa 4 on esitetty kaikkien päämuuttujien keskinäiset korrelaatiot. Koko aineistossa ilmekohtaiset prosessointivinoumat korreloivat positiivisesti toistensa kanssa sekä todennäköisyydet irrottaa katse kasvoärsykkeestä positiivisesti keskenään ( $p < .05$ ).

Sukupuolten välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja ilmekohtaisissa prosessointivinoumissa ( $p > .43$  kaikissa vertailuissa) eikä katseen irrottamisen todennäköisyyksissä ( $p > .17$  kaikissa vertailuissa).

**Taulukko 2.** *Kasvojen prosessointivinoumien sekä katseen irrottamisen todennäköisyyksien keskiarvot ja keskihajonnat.*

	Prosessointivinoumat					
	Kaikki (n=105)		Tytöt (n=51)		Pojat (n=54)	
	Ka	Kh	Ka	Kh	Ka	Kh
Neutraali	0.11	0.25	0.09	0.26	0.13	0.25
Ilo	0.03	0.22	0.03	0.22	0.03	0.21
Pelko	0.19	0.26	0.17	0.28	0.21	0.24

	Todennäköisyydet					
	Kaikki(n=105)		Tytöt (n=51)		Pojat (n=54)	
	Ka	Kh	Ka	Kh	Ka	Kh
Kontrolli	0.84	0.21	0.85	0.22	0.83	0.20
Neutraali	0.73	0.22	0.76	0.22	0.70	0.22
Iloinen	0.81	0.20	0.82	0.23	0.80	0.18
Pelokas	0.65	0.26	0.68	0.26	0.62	0.27

Taulukossa 3 on esitetty rasvahappojen pitoisuuksien sekä alfadiversiteetin keskiarvot ja keskihajonnat. Alfadiversiteetin ja propionaatin välillä oli koko aineistossa negatiivinen yhteys ( $r_s = -0.22$ ,  $p = .02$ ), joka ei kuitenkaan ollut korjattuna merkitsevä. Tytöillä alfadiversiteetti korreloi lisäksi positiivisesti isobutyraatin pitoisuuden kanssa ( $r_s = 0.30$ ,  $p = .04$ ), mutta tämäkään yhteys ei ollut merkitsevä korjauksen jälkeen. Muilta osin rasvahappojen pitoisuudet eivät olleet yhteydessä alfadiversiteettiin ( $p \leq .10$ ). Sukupuolten välillä ei ollut merkitseviä eroja alfadiversiteetissä ( $p = .60$ ) tai lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksissa ( $p > .10$  kaikissa vertailuissa).



**Taulukko 3.** Lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja suolistomikrobiomin alfadiversiteetin keskiarvot ja keskihajonnat.

	<b>Rasvahapot</b>					
	Kaikki (n=105)		Tytöt (n=51)		Pojat (n=54)	
	Ka.	Kh	Ka	Kh	Ka	Kh
Asetaatti	45.70	17.02	44.10	18.52	47.22	15.49
Propionaatti	14.40	6.77	14.59	6.55	14.22	7.03
Butyraatti	13.30	8.28	11.92	6.99	14.60	9.21
Valeraatti	2.70	0.77	2.70	0.79	2.70	0.75
Isovaleraatti	2.60	0.82	2.65	0.91	2.55	0.73
Isobutyraatti	1.79	0.41	1.83	0.44	1.76	0.37

	<b>Diversiteetti</b>					
	Kaikki (n=105)		Tytöt (n=51)		Pojat (n=54)	
	Ka	Kh	Ka	Kh	Ka	Kh
Shannon	3.10	0.71	3.12	0.72	3.07	0.70

### 3.3 Diversiteetin ja kasvojen prosessoinnin yhteydet

Alfadiversiteetti ei ollut yhteydessä katseen irrottamisen todennäköisyyksiin eikä emotionaalisten kasvojen prosessointivinoumiin minkään ilmeen osalta koko populaatiossa eikä sukupuolittain (Taulukko 4). Diversiteettiä ei tästä syystä sisällytetty jatkoanalyysiin.

### 3.4 Lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvojen prosessoinnin yhteydet

**Korrelaatiot** Koko populaatiossa ei havaittu merkitseviä yhteyksiä rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvojen prosessointivinoumien välillä (Taulukko 4). Sen sijaan katseen irrottamisen todennäköisyys pelokkaista kasvoista oli negatiivisesti yhteydessä isovaleraatin ( $r_s = -0.25$ ,  $p = .01$ ) ja isobutyraatin ( $r_s = -0.24$ ,  $p = .02$ ) pitoisuuksiin.

Yhteyksiä tarkasteltiin lisäksi erikseen tytöillä ja pojilla (merkitsevät ja viitteelliset yhteydet Kuvat 1 ja 2), jolloin todettiin merkitsevä positiivinen korrelaatio tyttöjen asetaatin pitoisuuden ja neutraalivinouman välillä ( $r_s = 0.35$ ,  $p = .01$ ). Tytöillä oli myös viitteitä valeraatin ja pelkovinouman välisestä positiivisesta yhteydestä ( $r_s = 0.28$ ,  $p = .047$ ) ja pojilla valeraatin ja neutraalivinouman välisestä negatiivisesta yhteydestä ( $r_s = -0.31$ ,  $p = .03$ ), mutta yhteydet eivät olleet merkitseviä korjausten jälkeen.

**Taulukko 4.** Korrelaatiomatriisit prosessointivinojen, kasvoista irrottautumisen todennäköisyyksien (DP), lyhytkejuisten rasvahappojen sekä alfadiversiteetin yhteyksistä (Spearmanin korrelaatiot) koko aineistolle sekä sukupuolittain. Benjamini-Hochberg (FDR<5%) tarkastelun jälkeen tilastollisesti merkitsevät yhteydet on tummennettu.

#### Kaikki

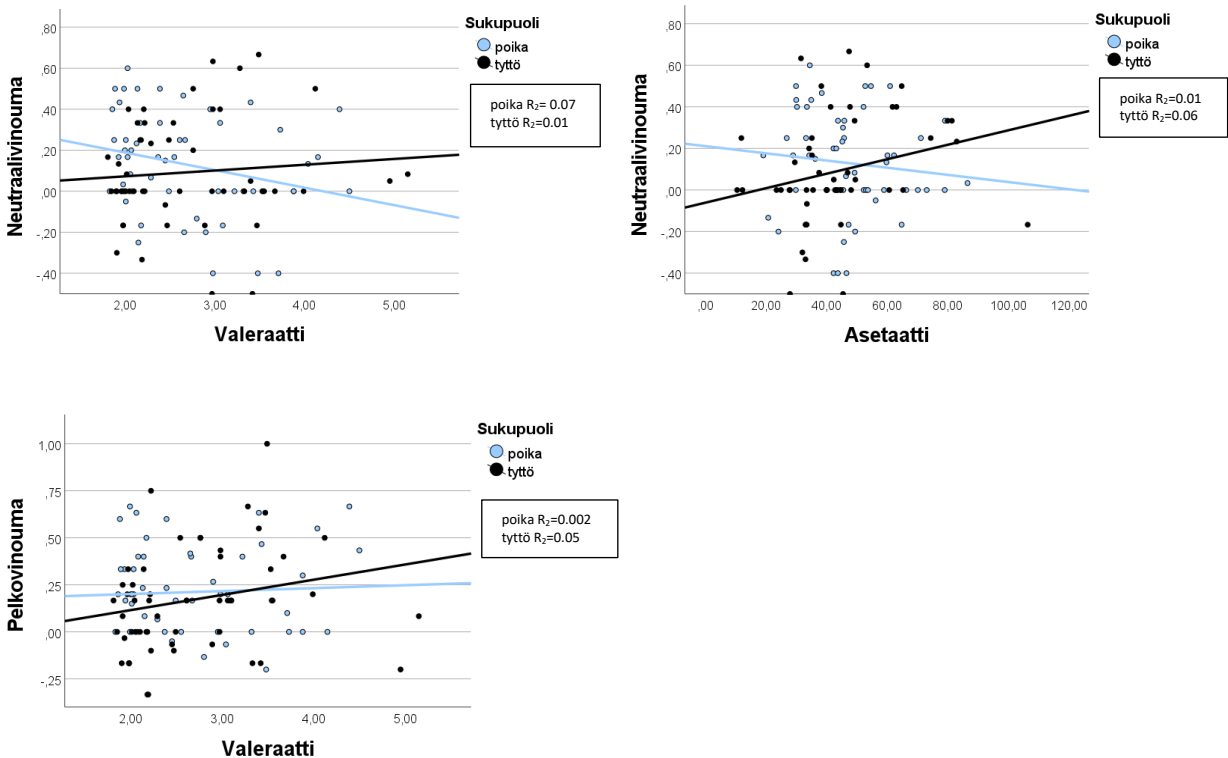
Muuttujat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. Neutraali	–													
2. Ilo	<b>0.57</b>	–												
3. Pelko	<b>0.48</b>	<b>0.39</b>	–											
4. DPkontrolli	<b>0.51</b>	<b>0.57</b>	<b>0.37</b>	–										
5. DPneutraali	<b>-0.60</b>	-0.13	-0.20	<b>0.28</b>	–									
6. DPiloinen	-0.04	<b>-0.45</b>	-0.03	<b>0.40</b>	<b>0.48</b>	–								
7. DPPelokas	-0.06	0.07	<b>-0.64</b>	<b>0.41</b>	<b>0.47</b>	<b>0.40</b>	–							
8. Asetaatti	0.12	0.05	0.13	0.004	-0.14	0.01	-0.14	–						
9. Butyraatti	0.05	-0.01	0.07	0.05	-0.01	0.07	-0.05	<b>0.71</b>	–					
10. Propionaatti	0.03	-0.02	0.03	-0.12	-0.14	-0.11	-0.14	<b>0.29</b>	0.16	–				
11. Valeraatti	-0.08	-0.08	0.13	-0.08	0.05	0.03	-0.18	0.11	0.13	<b>0.31</b>	–			
12. Isovaleraatti	-0.09	-0.11	0.16	-0.14	-0.05	-0.05	<b>-0.25</b>	0.10	0.16	<b>0.36</b>	<b>0.43</b>	–		
13. Isobutyraatti	-0.03	-0.09	0.17	-0.10	-0.06	-0.01	<b>-0.24</b>	0.15	0.13	<b>0.47</b>	<b>0.53</b>	<b>0.81</b>	–	
14. Alfadivers.	-0.06	-0.10	0.15	0.11	0.19	0.17	-0.06	-0.02	0.13	-0.22	0.12	0.16	0.10	–

#### Tytöt

Muuttujat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. Neutraali	–													
2. Ilo	<b>0.54</b>	–												
3. Pelko	<b>0.56</b>	<b>0.47</b>	–											
4. DPkontrolli	<b>0.52</b>	<b>0.51</b>	<b>0.51</b>	–										
5. DPneutraali	<b>-0.57</b>	-0.15	-0.13	0.27	–									
6. DPiloinen	0.01	<b>-0.47</b>	0.04	<b>0.42</b>	<b>0.49</b>	–								
7. DPPelokas	-0.09	-0.04	<b>-0.56</b>	0.34	<b>0.49</b>	<b>0.46</b>	–							
8. Asetaatti	<b>0.35</b>	0.15	0.18	0.06	-0.32	-0.003	-0.14	–						
9. Butyraatti	0.14	-0.06	0.07	-0.04	-0.19	0.04	-0.14	<b>0.71</b>	–					
10. Propionaatti	0.19	0.14	0.06	0.08	-0.16	-0.11	-0.03	0.30	0.25	–				
11. Valeraatti	0.15	0.02	0.28	0.01	-0.14	-0.03	<b>-0.36</b>	0.23	0.25	0.23	–			
12. Isovaleraatti	-0.03	-0.06	0.14	-0.03	-0.04	-0.08	-0.19	0.06	0.29	<b>0.41</b>	<b>0.48</b>	–		
13. Isobutyraatti	0.04	-0.07	0.14	-0.07	-0.12	-0.07	-0.23	0.21	0.30	<b>0.45</b>	<b>0.56</b>	<b>0.82</b>	–	
14. Alfadivers.	-0.12	-0.18	0.09	-0.02	0.21	0.16	-0.09	0.002	0.14	-0.26	0.20	0.26	0.30	–

## Pojat

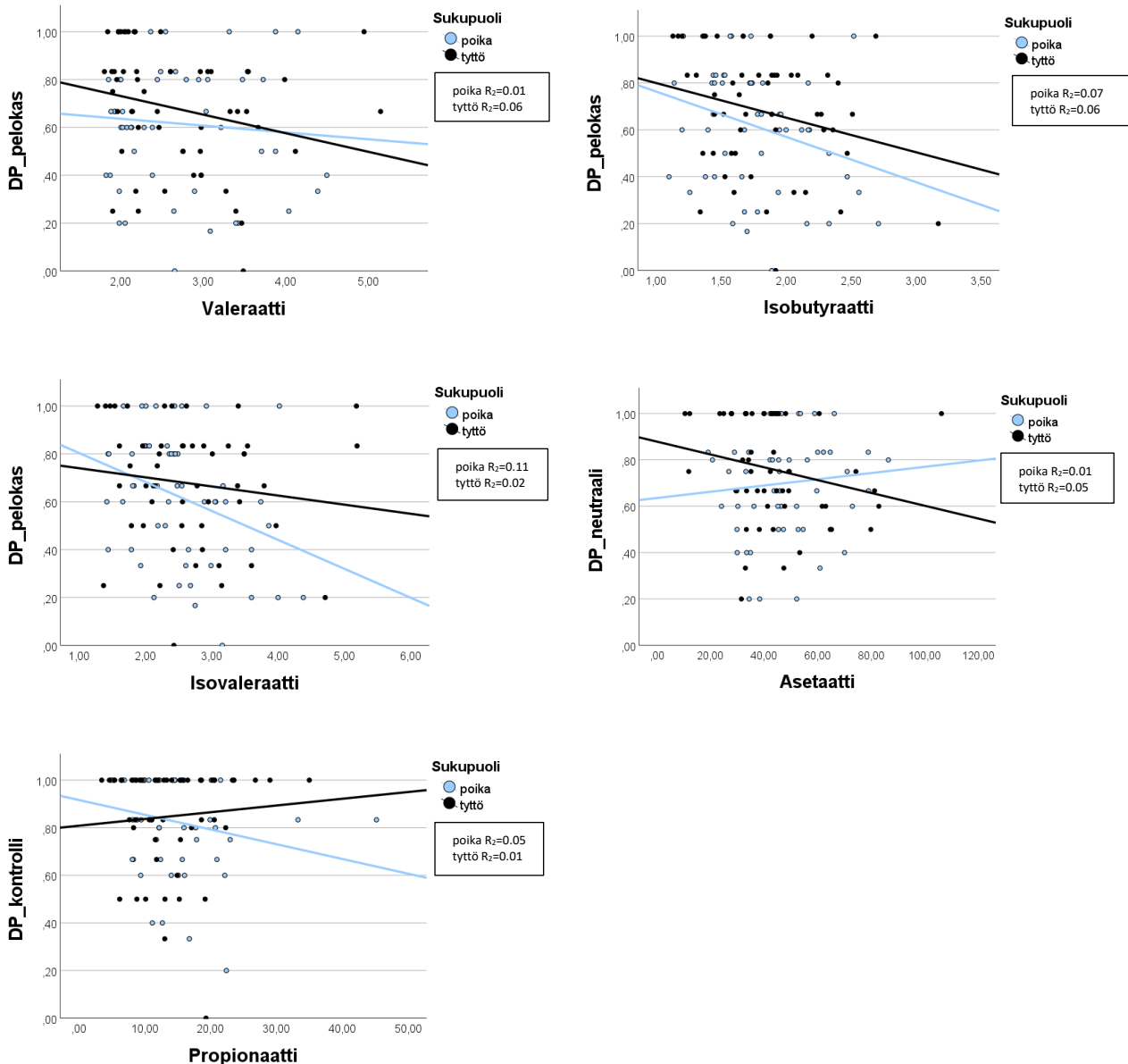
Muuttujat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1. Neutraali	–													
2. Ilo	<b>0.59</b>	–												
3. Pelko	<b>0.38</b>	0.32	–											
4. DPkontrolli	<b>0.53</b>	<b>0.65</b>	0.28	–										
5. DPneutraali	<b>-0.62</b>	-0.13	-0.22	0.25	–									
6. DPiloinen	-0.07	<b>-0.44</b>	-0.06	0.32	<b>0.47</b>	–								
7. DPPelokas	0.03	0.19	<b>-0.69</b>	<b>0.45</b>	<b>0.44</b>	0.30	–							
8. Asetaatti	-0.15	-0.07	0.04	-0.03	0.09	0.06	-0.11	–						
9. Butyraatti	-0.08	0.05	0.03	0.17	0.21	0.13	0.05	<b>0.72</b>	–					
10. Propionaatti	-0.13	-0.18	0.001	-0.32	-0.14	-0.12	-0.26	0.30	0.09	–				
11. Valeraatti	-0.31	-0.16	-0.03	-0.16	0.26	0.08	-0.03	0.004	0.02	<b>0.38</b>	–			
12. Isovaleraatti	-0.17	-0.18	0.18	-0.26	-0.07	-0.01	-0.33	0.16	0.03	0.31	<b>0.41</b>	–		
13. Isobutyraatti	-0.09	-0.11	0.23	-0.12	-0.01	0.05	-0.27	0.11	-0.02	<b>0.47</b>	<b>0.50</b>	<b>0.79</b>	–	
14. Alfadivers.	0.01	-0.01	0.20	0.21	0.14	0.15	-0.05	-0.02	0.13	-0.18	0.06	0.06	-0.08	–



**Kuva 1.** Sukupuolikohtaisia merkitseviä ja viitteellisiä yhteyksiä kasvojen prosessointivinoimien ja lyhytketjuisten rasvahappojen välillä. Hajontakuvioidin on sovitettu sukupuolen mukaan regressiosuorat (pojat sinisellä, tytöt mustalla), joille on ilmoitettu selitysasteet ( $R_2$ ).

Tytöillä valeraatin pitoisuus korreloi negatiivisesti pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden kanssa ( $r_s = -0.36$ ,  $p = .01$ ). Lisäksi asetaatin pitoisuus oli tytöillä viitteellisesti negatiivisesti yhteydessä neutraaleista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyteen ( $r_s = -0.32$ ,  $p = .02$ ) ja pojilla havaittiin viitteellisiä negatiivisia yhteyksiä propionaatin pitoisuuden ja

kontrolliärsykkeestä irrottautumisen todennäköisyyden välillä ( $r_s = -0.32$ ,  $p = .02$ ) sekä isovaleraatin ja isobutyraatin ja pelokkaista katseista irrottautumisen todennäköisyyden välillä ( $r_s = -0.33$ ,  $p = .01$  ja  $r_s = 0.27$ ,  $p = .046$ ), mutta yhteydet eivät olleet merkitseviä korjauksen jälkeen.



**Kuva 2.** Sukupuolikohtaisia merkitseviä ja viitteellisiä yhteyksiä kasvoista irrottautumisen todennäköisyyksien ja lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien välillä. Hajontakuvioihin on sovitettu sukupuolen mukaan regressiosuorat (pojat sinisellä, tytöt mustalla), jolle on ilmoitettu niiden selitysasteet ( $R_2$ ).

**Lineaarinen regressio** Rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvojen prosessointivinoimien yhteyksiä tarkasteltiin edelleen rasvahappokohtaisesti regressiomalleilla, joihin sisällytettiin sukupuolen mahdollisen moderoinnin vaikutuksen tarkastelemiseksi sukupuolen ja rasvahapon yhdysvaikutustermin (Taulukot 5–7). Kun sukupuoli oli lisätty moderoinniksi tekijäksi, malli

valeraatin pitoisuuden yhteydestä neutraalivinoumaan sopi aineistoon heikosti  $F(3,101) = 1.74$ ,  $p = .16$ , korjattu  $R^2 = .02$  (Taulukko 5). Valeraatti oli kuitenkin merkitsevä selittäjä ( $B = -0.26$ , 95 % CI =  $[-0.52-0.004]$ ,  $\beta = -0.28$ ,  $t = -2.02$ ,  $p = .046$ ) ja sukupuolen ja valeraatin yhdysvaikutus oli lähes merkitsevä ( $B = 0.36$ , 95 % CI =  $[-0.004-0.73]$ ,  $\beta = 0.27$ ,  $t = 1.96$ ,  $p = .053$ ). Kuten Kuvasta 1. nähdään, valeraatin pitoisuuden ollessa suurempi oli neutraalivinouma pojilla pienempi, kun taas tytöillä suunta oli päinvastainen.

**Taulukko 5.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen ja neutraalivinouman yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df = 1, 103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df = 3, 101$ ).

Malli	F	p	korj R <sup>2</sup>	NEUTRAALIVINOUMA					
				Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	0.99	.32	.00	Ase	0.02	$[-0.02-0.06]$	0.10	0.99	.32
Yhdysvaikutus	1.52	0.21	.02	Ase	-0.02	$[-0.08-0.04]$	-0.12	-0.76	.45
				Ase*sp	0.07	$[-0.01-0.15]$	0.27	1.77	.08
Butyraatti	0.00	1.00	-.01	Bu	0.00	$[-0.09-0.09]$	-0.001	-0.01	1.00
Yhdysvaikutus	0.35	.79	-.02	Bu	-0.04	$[-0.17-0.09]$	-0.09	-0.60	.55
				Bu*sp	0.06	$[-0.12-0.25]$	0.10	0.69	.49
Propionaatti	0.79	.38	-.00	Pro	0.03	$[-0.03-0.08]$	0.09	0.89	.38
Yhdysvaikutus	1.31	.28	.01	Pro	-0.02	$[-0.10-0.06]$	-0.06	-0.45	.65
				Pro*sp	0.09	$[-0.02-0.21]$	0.22	1.59	.12
Valeraatti	0.78	.38	-.00	Val	-0.08	$[-0.27-0.10]$	-0.09	-0.88	.38
Yhdysvaikutus	1.74	.16	.02	Val	<b>-0.26</b>	<b><math>[-0.52-0.004]</math></b>	<b>-0.28</b>	<b>-2.02</b>	<b>.046</b>
				Val*sp	0.36	$[-0.004-0.73]$	0.27	1.96	.053
Isovaleraatti	1.08	.30	.00	Ival	-0.11	$[-0.31-0.10]$	-0.10	-1.04	.30
Yhdysvaikutus	0.59	.62	-.01	Ival	-0.16	$[-0.47-0.15]$	-0.15	-1.01	.32
				Ival*sp	0.10	$[-0.31-0.51]$	0.07	0.47	.64
Isobutyyraatti	0.17	.68	-.01	Ibu	-0.07	$[-0.40-0.26]$	-0.04	-0.41	.68
Yhdysvaikutus	0.24	.87	-.02	Ibu	-0.10	$[-0.60-0.40]$	-0.06	-0.40	.69
				Ibu*sp	0.07	$[-0.60-0.75]$	0.03	0.22	.83

**Taulukko 6.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen ja ilovinouman yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df = 1, 103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df = 3, 101$ ).

Ilo =	F	p	korj R <sup>2</sup>	ILOVINOUMA					
				Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	0.01	.91	-0.01	Ase	0.002	$[-0.03-0.04]$	0.01	0.12	.91
Yhdysvaikutus	0.36	0.78	-0.02	Ase	-0.02	$[-0.07-0.03]$	-0.11	-0.71	.48
				Ase*sp	0.04	$[-0.03-0.10]$	0.16	1.03	.31
Butyraatti	0.10	.76	-0.01	Bu	-0.01	$[-0.09-0.06]$	-0.03	-0.31	.76
Yhdysvaikutus	0.13	.94	-.03	Bu	0.01	$[-0.10-0.12]$	0.03	0.17	.86
				Bu*sp	-0.04	$[-0.20-0.11]$	-0.08	-0.53	.60
Propionaatti	0.003	.95	-.01	Pro	0.001	$[-0.05-0.05]$	0.01	0.06	.95

<i>Yhdysvaikutus</i>	0.77	.51	-.01	Pro	-0.04	[-0.11–0.03]	-0.14	-1.02	.31
				Pro* <i>sp</i>	0.08	[-0.02–0.18]	0.21	1.52	.13
Valeraatti	0.49	.49	-.01	Val	-0.06	[-0.21–0.10]	-0.07	-0.70	.49
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.23	.88	-.02	Val	-0.09	[-0.32–0.13]	-0.11	-0.81	.42
				Val* <i>sp</i>	0.07	[-0.25–0.39]	0.06	0.45	.65
Isovaleraatti	1.73	.19	.01	Ival	-0.11	[-0.28–0.06]	-0.13	-1.31	.19
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.70	.55	-.01	Ival	-0.18	[-0.44–0.09]	-0.20	-1.33	.19
				Ival* <i>sp</i>	0.11	[-0.24–0.46]	0.10	0.63	.53
Isobutyraatti	0.93	.34	-.00	Ibu	-0.14	[-0.42–0.15]	-0.10	-0.97	.34
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.33	.80	-.02	Ibu	-0.18	[-0.61–0.25]	-0.12	-0.83	.41
				Ibu* <i>sp</i>	0.07	[-0.50–0.65]	0.04	0.25	.80

Malli isobutyraatin pitoisuuden yhteydestä pelkoviinoumaan sopii aineistoon  $F(1,103) = 4.06$ ,  $p = .046$ , korjattu  $R^2 = .03$  (Taulukko 7). Mitä suurempi isobutyraatin pitoisuus, sitä voimakkaampi pelkoviinouma ( $B = 0.34$ , 95 % CI = [0.01–0.67],  $\beta = 0.20$ ,  $t = 2.02$ ,  $p = .046$ ).

**Taulukko 7.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen ja pelkoviinouman yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df = 1, 103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df = 3, 101$ ).

PELKOVIINOUMA									
Ilo =	F	p	korj R <sup>2</sup>	Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	1.71	.20	.01	Ase	0.03	[-0.01–0.07]	0.13	1.31	.20
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.92	.43	-.00	Ase	0.01	[-0.06–0.07]	0.03	0.17	.87
				Ase* <i>sp</i>	0.03	[-0.05–0.12]	0.12	0.81	.42
Butyraatti	0.21	.65	-.01	Bu	0.02	[-0.07–0.11]	0.05	0.46	.65
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.28	.84	-.02	Bu	-0.003	[-0.14–0.13]	-0.01	-0.05	.96
				Bu* <i>sp</i>	0.04	[-0.15–0.22]	0.05	0.37	.71
Propionaatti	1.63	.20	.01	Pro	0.04	[-0.02–0.10]	0.13	1.28	.20
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.81	.49	-.01	Pro	0.03	[-0.05–0.11]	0.09	0.68	.50
				Pro* <i>sp</i>	0.02	[-0.10–0.14]	0.05	0.36	.72
Valeraatti	2.55	.11	.02	Val	0.15	[-0.04–0.34]	0.16	1.60	.11
<i>Yhdysvaikutus</i>	1.72	.17	.02	Val	0.02	[-0.24–0.28]	0.02	0.15	.88
				Val* <i>sp</i>	0.26	[-0.11–0.64]	0.19	1.40	.17
Isovaleraatti	1.41	.24	.00	Ival	0.12	[-0.08–0.32]	0.12	1.19	.24
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.80	.50	-.01	Ival	0.19	[-0.13–0.50]	0.18	1.19	.24
				Ival* <i>sp</i>	-0.11	[-0.52–0.31]	-0.08	-0.52	.60
Isobutyraatti	<b>4.06</b>	<b>.046</b>	<b>.03</b>	<b>Ibu</b>	<b>0.34</b>	<b>[0.01–0.67]</b>	<b>0.20</b>	<b>2.02</b>	<b>.046</b>
<i>Yhdysvaikutus</i>	1.68	.18	.02	Ibu	0.41	[-0.09–0.91]	0.24	1.62	.11
				Ibu* <i>sp</i>	-0.11	[-0.78–0.57]	-0.05	-0.31	.76

Myös rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvoista irrottautumisen todennäköisyyksien yhteyksiä tarkasteltiin regressiomalleilla, joissa huomioitiin sukupuolen mahdollinen yhteyttä moderoiva vaikutus (Taulukot 8–11). Malli isobutyraatin pitoisuuden yhteydestä katseen irrottautumiseen pelokkaista kasvoista sopi aineistoon  $F(1,103) = 6.76$ ,  $p = .01$ , korjattu  $R^2 = .05$  (Taulukko 11). Mitä suurempi isobutyraatin pitoisuus, sitä pienempi irrottautumisen todennäköisyys ( $B = -0.44$ , 95 % CI =  $[-0.77 - -0.10]$ ,  $\beta = -0.25$ ,  $t = -2.60$ ,  $p = .01$ ). Myös isovaleraatin pitoisuus selitti irrottautumista pelokkaista kasvoista ( $F(1,103) = 5.68$ ,  $p = .02$ , korjattu  $R^2 = .04$ ) siten, että isovaleraatin pitoisuuden kasvaessa pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyys laski ( $B = -0.24$ , 95 % CI =  $[-0.44 - -0.04]$ ,  $\beta = -0.23$ ,  $t = -2.38$ ,  $p = .02$ ). Samoin propionaatti ennusti negatiivisesti pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyttä ( $F(1,103) = 4.41$ ,  $p = .04$ , korjattu  $R^2 = .03$ ,  $B = -0.06$ , 95 % CI =  $[-0.12 - -0.003]$ ,  $\beta = -0.20$ ,  $t = -2.10$ ,  $p = .04$ ). Rasvahappojen pitoisuuksien ja kasvojen prosessoinnin välillä ei havaittu muita merkitseviä yhteyksiä.

**Taulukko 8.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja kontrolloiärsykkeestä irrottautumisen todennäköisyyden yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df = 1,103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df = 3,101$ ).

Ilo =	F	p	korj R <sup>2</sup>	KONTROLLI					
				Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	0.00	.99	-.01	Ase	0.00	$[-0.03-0.03]$	-0.001	-0.01	.99
Yhdysvaikutus	0.12	.95	-.03	Ase	-0.01	$[-0.06-0.05]$	-0.03	-0.22	.83
				Ase*sp	0.01	$[-0.06-0.08]$	0.05	0.33	.74
Butyraatti	0.01	.92	-.01	Bu	-0.004	$[-0.08-0.07]$	-0.01	-0.10	.92
Yhdysvaikutus	0.36	.78	-.02	Bu	0.04	$[-0.07-0.15]$	0.10	0.66	.51
				Bu*sp	-0.07	$[-0.22-0.08]$	-0.13	-0.91	.36
Propionaatti	1.00	.32	.00	Pro	-0.02	$[-0.07-0.02]$	-0.10	-1.00	.32
Yhdysvaikutus	1.17	.32	.01	Pro	-0.06	$[-0.13-0.01]$	-0.24	-1.77	.08
				Pro*sp	0.07	$[-0.02-0.17]$	0.20	1.49	.14
Valeraatti	0.09	.77	-.01	Val	-0.02	$[-0.18-0.13]$	-0.03	-0.30	.77
Yhdysvaikutus	0.16	.92	.03	Val	-0.05	$[-0.28-0.17]$	-0.07	-0.48	.64
				Val*sp	0.06	$[-0.26-0.37]$	0.05	0.38	.71
Isovaleraatti	2.09	.15	.01	Ival	-0.12	$[-0.29-0.05]$	-0.14	-1.45	.15
Yhdysvaikutus	0.98	.41	-.00	Ival	-0.20	$[-0.45-0.06]$	-0.23	-1.51	.13
				Ival*sp	0.13	$[-0.21-0.46]$	0.11	0.73	.47
Isobutyraatti	0.50	.48	-.01	Ibu	-0.10	$[-0.38-0.18]$	-0.07	-0.71	.48
Yhdysvaikutus	0.27	.85	-.02	Ibu	-0.10	$[-0.52-0.32]$	-0.07	-0.46	.65
				Ibu*sp	-0.01	$[-0.58-0.55]$	-0.01	-0.05	.96

**Taulukko 9.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja neutraaleista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df=1,103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df= 3,101$ ).

NEUTRAALI									
Neutraali =	F	p	korj R <sup>2</sup>	Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	1.28	.26	.00	Ase	-0.02	[-0.05–0.02]	-0.11	-1.13	.26
Yhdysvaikutus	1.89	.14	.03	Ase Ase*sp	0.02 -0.06	[-0.04–0.07] [-0.13–0.01]	0.10 -0.26	0.65 -1.69	.52 .09
Butyraatti	0.01	.93	-.01	Bu	-0.003	[-0.08–0.08]	-0.01	-0.09	.93
Yhdysvaikutus	1.53	.21	.02	Bu Bu*sp	0.08 -0.13	[-0.04–0.19] [-0.29–0.03]	0.19 -0.24	1.32 -1.67	.19 .10
Propionaatti	3.90	.05	.03	Pro	-0.05	[-0.10–0.00]	-0.19	-1.97	.051
Yhdysvaikutus	2.01	.12	.03	Pro Pro*sp	-0.04 -0.02	[-0.11–0.03] [-0.12–0.08]	-0.16 -0.05	-1.18 -0.39	.24 .70
Valeraatti	0.51	.48	-.01	Val	0.06	[-0.11–0.22]	0.07	0.72	.48
Yhdysvaikutus	1.93	.13	.03	Val Val*sp	0.21 -0.30	[-0.02–0.44] [-0.63–0.02]	0.25 -0.25	1.83 -1.86	.07 .07
Isovaleraatti	0.03	.86	-.01	Ival	-0.02	[-0.19–0.16]	-0.02	-0.18	.86
Yhdysvaikutus	0.61	.61	-.01	Ival Ival*sp	-0.04 0.03	[-0.31–0.24] [-0.33–0.39]	-0.04 0.02	-0.28 0.15	.78 .88
Isobutyraatti	0.04	.84	-.01	Ibu	-0.03	[-0.32–0.27]	-0.02	-0.20	.84
Yhdysvaikutus	0.64	.59	-.01	Ibu Ibu*sp	0.003 -0.09	[-0.44–0.44] [-0.68–0.51]	0.002 -0.04	0.01 -0.29	.99 .77

**Taulukko 10.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja iloisista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df=1,103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df= 3, 101$ ).

ILOINEN									
Ilo =	F	p	korj R <sup>2</sup>	Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	0.02	.89	-.01	Ase	-0.002	[-0.03–0.03]	-0.01	-0.13	.89
Yhdysvaikutus	0.26	.85	-.02	Ase Ase*sp	0.01 -0.02	[-0.04–0.06] [-0.09–0.04]	0.08 -0.11	0.51 -0.74	.61 .46
Butyraatti	0.05	.82	-.01	Bu	0.01	[-0.06–0.08]	0.02	0.23	.82
Yhdysvaikutus	0.16	.92	-.03	Bu Bu*sp	0.03 -0.03	[-0.08–0.13] [-0.18–0.12]	0.07 -0.06	0.50 -0.38	.62 .71
Propionaatti	1.21	.28	.00	Pro	-0.03	[-0.07–0.02]	-0.11	-1.10	.28
Yhdysvaikutus	0.49	.69	-.02	Pro Pro*sp	-0.03 -0.003	[-0.09–0.04] [-0.10–0.10]	-0.10 -0.01	-0.75 -0.07	.46 .95
Valeraatti	0.18	.67	-.01	Val	0.03	[-0.12–0.18]	0.04	0.43	.67



<i>Yhdysvaikutus</i>	0.14	.94	-.03	Val	0.04	[-0.18–0.25]	0.05	0.36	.72
				Val*sp	-0.01	[-0.32–0.29]	-0.01	-0.09	.93
Isovaleraatti	0.01	.91	-.01	Ival	-0.01	[-0.17–0.15]	-0.01	-0.11	.91
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.09	.97	-.03	Ival	-0.02	[-0.27–0.23]	-0.02	-0.15	.88
				Ival*sp	0.01	[-0.32–0.35]	0.01	0.09	.93
Isobutyraatti	0.08	.78	-.01	Ibu	0.04	[-0.23–0.31]	0.03	0.28	.78
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.13	.94	-.03	Ibu	0.08	[-0.33–0.49]	0.06	0.40	.69
				Ibu*sp	-0.09	[-0.63–0.46]	-0.05	-0.31	.76

**Taulukko 11.** Regressiomallit lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden yhteyksille (vapausasteet päävaikutusmalleille  $df = 1, 103$ , yhdysvaikutusmalleille  $df = 3, 101$ ).

				PELOKAS					
Neutraali =	F	p	korj R <sup>2</sup>	Selittäjät	B	95 % CI	$\beta$	t	p
Asetaatti	1.67	.20	.01	Ase	-0.03	[-0.07–0.01]	-0.13	-1.29	.20
<i>Yhdysvaikutus</i>	1.01	.39	.00	Ase	-0.01	[-0.07–0.05]	-0.05	-0.35	.73
				Ase*sp	-0.02	[-0.10–0.06]	-0.08	-0.53	.60
Butyraatti	0.28	.60	-.01	Bu	-0.03	[-0.12–0.07]	-0.05	-0.53	.60
<i>Yhdysvaikutus</i>	0.92	.44	-.00	Bu	0.04	[-0.10–0.18]	0.09	0.59	.56
				Bu*sp	-0.11	[-0.29–0.08]	-0.16	-1.12	.27
<b>Propionaatti</b>	<b>4.41</b>	<b>.04</b>	<b>.03</b>	<b>Pro</b>	<b>-0.06</b>	<b>[-0.12– -0.003]</b>	<b>-0.20</b>	<b>-2.10</b>	<b>.04</b>
<i>Yhdysvaikutus</i>	2.27	.09	.04	<b>Pro</b>	<b>-0.09</b>	<b>[-0.17– -0.01]</b>	<b>-0.29</b>	<b>-2.14</b>	<b>.04</b>
				Pro*sp	0.05	[-0.07–0.17]	0.12	0.87	.39
Valeraatti	3.33	.07	.02	Val	-0.17	[-0.36–0.02]	-0.18	-1.82	.07
<i>Yhdysvaikutus</i>	1.98	.12	.03	Val	-0.07	[-0.34–0.19]	-0.07	-0.54	.59
				Val*sp	-0.20	[-0.58–0.18]	-0.15	-1.07	.29
<b>Isovaleraatti</b>	<b>5.68</b>	<b>.02</b>	<b>.04</b>	<b>Ival</b>	<b>-0.24</b>	<b>[-0.44– -0.04]</b>	<b>-0.23</b>	<b>-2.38</b>	<b>.02</b>
<i>Yhdysvaikutus</i>	<b>2.95</b>	<b>.04</b>	<b>.05</b>	<b>Ival</b>	<b>-0.38</b>	<b>[-0.69– -0.08]</b>	<b>-0.36</b>	<b>-2.47</b>	<b>.02</b>
				Ival*sp	0.23	[-0.17–0.64]	0.17	1.14	.26
<b>Isobutyraatti</b>	<b>6.76</b>	<b>.01</b>	<b>.05</b>	<b>Ibu</b>	<b>-0.44</b>	<b>[-0.77– -0.10]</b>	<b>-0.25</b>	<b>-2.60</b>	<b>.01</b>
<i>Yhdysvaikutus</i>	<b>2.97</b>	<b>.04</b>	<b>.05</b>	<b>Ibu</b>	<b>-0.51</b>	<b>[-1.00– -0.01]</b>	<b>-0.29</b>	<b>-2.01</b>	<b>.047</b>
				Ibu*sp	0.09	[-0.58–0.76]	0.04	0.27	.79

## 4 POHDINTA

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää 30 kuukauden ikäisten lasten suolistomikrobiomin alfadiversiteetin sekä lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja emotionaalisiin kasvoihin suuntautuneen tarkkaavaisuuden välisiä yhteyksiä. Kasvojen prosessointia tarkasteltiin erikseen ilmekohtaisesti (iloinen, neutraali ja pelokas) sekä todennäköisyytenä irrottautua kasvoista että kontrolliärsykkeeseen vertaamalla laskettuna prosessointivinoumana. Yhteyksiä alfadiversiteettiin ei havaittu, mutta tulokset osoittivat osin sukupuolikohtaisia yhteyksiä erityisesti pelokkaiden ja neutraalien kasvojen prosessoinnin ja lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien välillä.

### 4.1 Emotionaalinen tarkkaavaisuus ja alfadiversiteetti

Suolistomikrobiomin alfadiversiteetin ja kasvojenilmeisiin kohdistuvan tarkkaavaisuuden välillä ei havaittu yhteyttä koko aineistossa eikä sukupuolittain tarkasteltuna. Tämä tulos vastaa aiemman 8 kuukauden aineiston tuloksia, joissa yhteyttä diversiteetin ja kasvojen prosessoinnin välillä ei myöskään havaittu (Aatsinki ym., 2020a; Tarro, 2020). Diversiteettiä tarkasteltiin tässä kuitenkin vain Shannon-indeksillä, joten tulos ei poissulje mahdollisuutta mikrobiston lajirikkauden tai muiden monimuotoisuuden mittareiden ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välisille yhteyksille. Pelkkä diversiteetti ei myöskään mittarina kuvasta täysin mikrobiekosysteemin tilaa tai mikrobiston toiminnallisuutta. Suolistomikrobiston ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden mahdollisista yhteyksistä ja sitä välittävistä mekanismeista saataisiin lisätietoa arvioimalla myös suolistomikrobiston tarkempaa koostumusta ja toiminnallista kapasiteettia. Aiemmassa kirjallisuudessa diversiteetin yhteydet lasten käytöksen ilmiöihin ovat olleet monensuuntaisia ja tutkimusta on tehty vaihtelevasti eri ikäluokissa. Diversiteetin merkitys eri ikävaiheissa voi olla erilainen ja toisaalta mikrobiston kehitys ja kypsyminen samanikäisillä eri tahtista (Bäckhed ym., 2015). Osa aiempien tutkimusten tuloksista viittasi ensimmäisen ikävuoden suuremman alfadiversiteetin voivan heikentää emootioiden säätelyä, sillä diversiteetti oli yhteydessä mantelitulmakkeen ja talamuksen sekä etummaisesta pihtipoimun ja etummaisesta insulan alentuneeseen konnektiivisuuteen eli erityisesti negatiivisten emootioiden prosessointiin, ärsykkeiden merkityksellisyyden arviointiin ja tarkkaavaisuuden säätelyyn osallistuvien alueiden heikompiin keskinäisiin yhteyksiin (Gao ym., 2019). Lisäksi alfadiversiteetti on yhdistetty myöhempään eksternalisoiviin ja internalisoiviin käytösongelmiin (Loughman ym., 2020b) sekä tytöillä heikompaan toiminnanohjaukseen (Christian ym., 2015). Toisaalta 3–5-vuotiailla alhaisempi alfadiversiteetti oli yhteydessä vanhempien arvioimiin internalisoiviin haasteisiin (van de Wouw ym., 2022). Ristiriitaisuuksista huolimatta diversiteetin jonkinsuuntaisia ilmekohtaisia yhteyksiä kasvojen prosessointiin oltaisiin voitu odottaa. Lisäksi

FinnBrain-kohortissa on aiemmin havaittu suuremman alfadiversiteetin kahden ja puolen kuukauden ikäisenä olevan yhteydessä vähäisempään negatiiviseen emotionaalisuuteen sekä pelkoreaktiivisuuteen, mikä voisi viitata diversiteetin olevan yhteydessä suotuisampaan emotionaaliseen kehitykseen (Aatsinki ym., 2019). Näiden tulosten merkitystä myöhemmän sosioemotionaalisen kehityksen kannalta on hankala arvioida ilman pitkittäisseurantaa.

## 4.2 Emotionaalinen tarkkaavaisuus ja lyhytketjuiset rasvahapot

Tutkimuksen keskiössä olivat suolistomikrobien aineenvaihdunnassaan tuottamien lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien yhteydet kasvojen ilmekohtaiseen prosessointiin. Merkitseviä ja viitteellisiä yhteyksiä havaittiin erityisesti valeraatin sekä haarauneiden rasvahappojen ja pelokkaiisiin ja neutraaleihin kasvoihin suuntautuvan tarkkaavaisuuden väliltä. Pelokkaiden kasvojen osalta isovaleraatin ja isobutyraatin sekä heikommin myös propionaatin pitoisuudet ennustivat pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyttä siten, että mitä suurempi niiden pitoisuus, sitä pienempi irrottautumisen todennäköisyys. Isobutyraatin pitoisuus ennusti myös voimakkaampaa pelkovinoumaa. Lisäksi tytöillä valeraatti korreloi negatiivisesti pelokkaista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden ja viitteellisesti positiivisesti pelkovinouman kanssa viitaten valeraatin voivan olla erityisesti tytöillä yhteydessä voimakkaampaan tarkkaavaisuuden suuntautumiseen pelokkaiisiin kasvoihin. Sukupuolen ei kuitenkaan havaittu moderoivan rasvahappojen ja pelokkaiden kasvojen prosessoinnin yhteyttä. Kohonneet isobutyraatin, isovaleraatin ja valeraatin (sekä butyraatin) pitoisuudet on aiemmin yhdistetty lasten vanhempien raportointiin emotionaalisiin haasteisiin (Michels ym., 2017). Aikuisilla isovaleraatti on liitetty masennukseen (Szczesniak ym., 2016), jota Beckin kognitiivisen mallin mukaisesti kuvastaa yleinen tiedonkäsittelyn negatiivisuusvinouma (Beck, 2008). Lisäksi suuremman isobutyraatin pitoisuuden havaittiin tuoreessa tutkimuksessa olevan yhteydessä kahden vuoden ikäisten heikompaan toiminnanohjaukseen (McMath ym., 2022, julkaistaan pian).

Alustavia yhteyksiä varhaisen kasvoihin suuntautuvan tarkkaavaisuuden ja myöhemmän sosioemotionaalisen kehityksen välillä on havaittu (Peltola ym., 2018), mutta emotionaalisen tarkkaavaisuuden merkityksen ja normatiivisen kehityskulun ymmärrys erityisesti ilmekohtaisesti on edelleen puutteellista. On kuitenkin ehdotettu, että normaalisti tarkkaavaisuuden suuntautuminen uhkaan vähentyisi iän myötä itsesäätelykyvyn lisääntyessä, mutta joillakin uhkavinouma jää voimakkaammaksi, mikä voisi altistaa muun muassa ahdistuneisuudelle (Dudeney ym., 2015; Henderson & Wilson, 2017). Tässä tutkimuksessa ei tutkittu yhteyksiä lasten ahdistuneisuuteen tai toiminnanohjaukseen, mutta isovaleraatti ja isobutyraatti sekä mahdollisesti propionaatti ja tytöillä

valeraatti voisivat välittää suolistomikrobiomin merkitystä uhan prosessointiin ja sitä kautta mahdollisesti emotionaalisten haasteiden ilmenemisen riskiin. Mielenkiintoisesti valeraattia ja haarautuneita rasvahappoja tuotetaan erityisesti proteolyttisessä fermentaatiossa (MacFarlane ym., 1986), kun taas kuitupitoiset prebioottiset saattavat lisätä asetaatin, butyraatin ja propionaatin tuotantoa (Burokas ym., 2017; Szklany ym., 2020). Ravinto voi muokata lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksia ja siten mahdollisesti vaikuttaa myös havaittuihin yhteyksiin.

Tällä hetkellä tutkimustieto rasvahappojen ja emotionaalisen prosessoinnin ja tarkkaavaisuuden säätelyn yhteyksistä on kuitenkin riittämätöntä ja osin ristiriitaista. Loughmann ym. (2020a) eivät esimerkiksi havainneet ollenkaan yhteyttä minkään rasvahapon ja internalisoivien tai eksternalisoivien käytösoireiden välillä ja van de Wouw ym. (2022) puolestaan totesivat, että isobutyraatti ja valeraatti korreloivat negatiivisesti internalisoivien oireiden kanssa. Ristiriitaisia tuloksia voivat selittää muun muassa tutkimusten vaihtelevat metodologiat ja ikäluokat. Useammassa tutkimuksessa on joka tapauksessa havaittu yhteyksiä lyhytketjuisten rasvahappojen pitoisuuksien ja sosioemotionaalisen prosessoinnin välillä, mitä tämän tutkimuksen tulokset edelleen tukevat emotionaalisen tarkkaavaisuuden osalta. Jotta tätä yhteyttä ja sitä välittäviä mekanismeja voitaisiin ymmärtää paremmin, tulisi tulevissa tutkimuksissa selvittää yhteyksiä suolistomikrobiston koostumukseen, tarkempia biologisia mekanismeja yhteyden taustalla sekä ennen kaikkea, mitä yhteys merkitsee sosioemotionaalisen kehityksen kannalta.

Neutraalien kasvojen prosessoinnin ja rasvahappojen pitoisuuksien välillä havaittiin lähinnä sukupuolikohtaisia korrelaatioita. Lisäksi valeraatin pitoisuus kuitenkin ennusti sukupuolen ja valeraatin yhdysvaikutusmallissa neutraalivinoumaa siten, että mitä suurempi valeraatin pitoisuus, sitä pienempi neutraalivinouma ja myös yhdysvaikutuksesta oli viitteitä. Pojilla neutraalivinouma olikin viitteellisesti negatiivisesti yhteydessä valeraatin pitoisuuteen. Lisäksi asetaatin pitoisuus korreloi tytöillä positiivisesti neutraalivinouman kanssa ja myös viitteellisesti pienemmän neutraaleista kasvoista irrottautumisen todennäköisyyden kanssa. Tämän aineiston perusteella kahden ja puolen vuoden iässä tarkkaavaisuus suuntautuu neutraaleihin kasvoihin voimakkaammin kuin kontrolliärsykkeeseen tai iloisiin kasvoihin (kts. myös Paija, 2020). On vielä epäselvää, mikä tämän neutraalivinouman merkitys tai tuleva kehityskulku on. Toisin kuin neutraali sanana antaa ymmärtää, on viitteitä, etteivät ainakaan vanhemmat lapset välttämättä näe neutraaleja kasvoja ns. ”neutraaleina” (Marusak ym., 2017; Paija, 2020; Rollins ym., 2021; Tottenham ym., 2013). Mahdollisesti neutraalin ilmeen muihin ilmeisiin verrattuna suurempi epämääräisyys vaatii enemmän arviointia ja sitoo siksi tarkkaavaisuutta neutraaleihin kasvoihin. Toisaalta neutraalit kasvot arvioidaan valenssiltaan herkemmin negatiivisiksi kuin positiivisiksi 6–17-vuotiaina (Tottenham ym.,

2013; Marusak ym., 2017) sekä nuorina aikuisina (Rollins ym., 2021). Voi olla, että neutraalit kasvot tulkitaan esimerkiksi jossain määrin uhkaaviksi tai muuten negatiivisiksi pelokkaiden tai vihaisten kasvojen tavoin. Neutraalien kasvojen valenssin arviointi muistuttaakin vihaisten ja pelokkaiden kasvojen arviointia ja mantelitumakkeen vaste pelokkaiden tai vihaisten kasvojen vastetta (Marusak ym., 2013; Marusak ym., 2017; Tottenham ym., 2013). Koska on epäselvää, miten tämän ikäiset lapset tulkitsevat neutraalit kasvot, tai mitä yksilölliset erot neutraalivinoumassa merkitsevät sosioemotionaalisen kehityksen kannalta, on myös vaikea arvioida, mitä niiden sukupuolittain erilaiset yhteydet rasvahappoihin voisivat merkitä.

### 4.3 Sukupuoli moderoivana tekijänä

Tässä tutkimuksessa ei havaittu sukupuolen moderoivan rasvahappojen ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välistä yhteyttä. Rasvahappojen ja pelokkaiden ja neutraalien kasvojen prosessoinnin välisissä korrelaatioissa havaittiin kuitenkin sukupuolten välillä eroja. Lyhytketjuisten rasvahappojen sukupuolikohtaisesta merkityksestä mikrobiomi-suolisto-aivot-akselin toiminnassa on myös aiempaa näyttöä, sillä asetaatti ja butyraatti säätelivät hiirten astrozyttien geeniekspressiota soluviljelmässä eri tavalla naaraiden ja koiraiden soluissa (Spichak ym., 2021). Aivojen, sukupuolihormonien ja mikrobiston kehitysvaiheet sekä näissä näyttäytyvät sukupuolierot ovatkin kaikki ajoitukseltaan samantyyppisiä, minkä on ehdotettu viittaavan mikrobiomi-suolisto-aivot-akselin kehityksen sukupuolikohtaisuuteen (Jašarević ym., 2016).

Sukupuolierojen taustalla on todennäköisesti sukupuolihormonien lisäksi useamman tekijän muodostama kokonaisuus mukaan lukien geenit, ympäristön normit ja pitkälle ulottuva evolutiivinen tausta, joiden vuoksi tytöt ja pojat voivat olla eri tavalla herkkiä kohtaamilleen tekijöille ja vaste niihin voi olla erilainen (Jaggar ym., 2020; Jašarević ym., 2016). Nämä tekijät voivat olla esimerkiksi erilaisten psykiatristen ja kehityksellisten häiriöiden sukupuolittain erilaisen esiintymisen taustalla. Esimerkiksi äidin raskauden jälkeisen stressin vaikutukset näyttäytyvät varhaislapsuuden kasvoihin suuntautuneessa tarkkaavaisuudessa eri tavalla pojilla ja tytöillä siten, että tyttöjen todennäköisyys irrottautua kaikenlaisista kasvoista oli pienempi (Kataja ym., 2019). Sukupuolet voivatkin erota emootioiden tunnistuksen ja niihin liittyvien vasteiden suhteen sen perusteella, mikä on sosiaalisessa kontekstissa adaptiivista (Kret ym., 2012). Tämän tutkimuksen tulokset antavat viitteitä mahdollisista sukupuolieroista suolistomikrobiston ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välisissä yhteyksissä, joten sukupuolen vaikutus tulisi huomioida myös tulevilla tutkimuksilla.

#### 4.4 Tutkimuksen vahvuudet ja rajoitukset

Tämän tutkimuksen perusteella havaitut yhteydet tuovat uutta tietoa mikrobiomi-suolisto-aivot-akselin merkityksestä emotionaalisen tarkkaavaisuuden kehityksessä lapsuudessa ja korostavat tarvetta tutkia tarkemmin lyhytketjuisten rasvahappojen merkitystä tätä yhteyttä säätelevänä tekijänä. Lisäksi neutraaleja sekä ajoittain myös iloisia kasvoja on usein käytetty tutkimuksissa kontrolliärsykkeinä, mutta eräs tämän tutkimuksen vahvuuksista on, että neutraaleja, iloisia ja pelokkaita ilmeitä tarkasteltiin erikseen tasavertaisesti.

Tulosten tulkinnessa on kuitenkin syytä huomioida myös tutkimuksen heikkoudet. Suolistomikrobiston ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden kehitykseen (mahdollisesti osin mikrobiston välityksellä) voivat vaikuttaa useat sisäiset sekä raskaudenaikaiset ja raskauden jälkeiset ulkoiset tekijät, joten niiden välistä yhteyttä mahdollisesti medioivat tai moderoivat tekijät, kuten esimerkiksi ravinnon mahdollinen vaikutus jäävät tässä tutkimuksessa epäselviksi. Mahdollisia taustatekijöitä ei kuitenkaan kontrolloitu, sillä selkeitä yhteyksiä tutkittuihin päämuuttujiin ei havaittu. Tutkimuspopulaatio oli myös taustatekijöiden suhteen kohtuullisen homogeeninen (esim. kaikkia lapsia oli imetetty ainakin osittain ja suurin osa (87 %) oli alateitse syntyneitä). Tämä on voinut heikentää mahdollisia yhteyksiä, ja tulokset voisivat olla toisenlaisessa mahdollisesti monimuotoisemmassa populaatiossa erilaisia. Lisäksi noin kaksi kolmasosaa aineiston lapsista kuului fokuskohorttiin, eli heidän äitinsä kuuluivat raskausaikana eniten tai vähiten stressiä raportoineisiin. Äidin raskausajan stressin on raportoitu olevan yhteydessä sekä kasvoihin suuntautuneeseen tarkkaavaisuuteen (Kataja ym., 2019; Kataja ym., 2020) että lapsen mikrobiston koostumukseen ja toimintaan (Jašarević ym., 2017), joten äidin stressi on voinut myös vaikuttaa emotionaalisen tarkkaavaisuuden ja mikrobistomuuttujien välisiin yhteyksiin. Aineistoa oli kuitenkin rikastettu fokuskohortin ulkopuolisilla henkilöillä, joten on epätodennäköistä, että aineiston jakautuminen stressin suhteen on vaikuttanut tuloksiin. Stressin vaikutusta rasvahappojen ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden välisiin yhteyksiin olisi kuitenkin hyvä arvioida tulevissa kyseisen tutkimuskysymyksen tarkasteluun suunnitelluissa tutkimuksissa.

Lyhytketjuisten rasvahappojen määrittäminen ulosteesta on yleinen ei-invasiivinen menetelmä ja siten myös hyvin vertailtavissa muuhun kirjallisuuteen, mutta menetelmä ei ole ongelmaton. Tällä mittaustavalla ei saada tarkkaa käsitystä rasvahappojen tuotannon tasosta tai imeytymisestä suolistossa eikä niiden systeemisestä saatavuudesta verenkierrossa (Cummings ym., 1987). Tämä on voinut aiheuttaa epätarkkuutta lyhytketjuisten rasvahappojen ja kasvojen prosessoinnin välisten yhteyksien tarkasteluun. Havaitut yhteydet olivatkin heikkoja tai osin viitteellisiä. Lisäksi tuloksia

tulkittaessa tulisi huomioida, että päämuuttujien arvoissa (erityisesti vinoumamuuttujat) on suurta yksilöllistä hajontaa (Taulukot 2 ja 3). Otokoko on voinut olla liian pieni joidenkin heikkojen yhteyksien tai sukupuolierojen havaitsemiseen. Toisaalta Sarkar ja kumppanit (2018) ehdottivat, että mikrobiston ja monimutkaisempien eläinten välillä yhteydet todennäköisesti ovat oletusarvoisestikin heikompia esimerkiksi fysiologialtaan yksinkertaisempiin eläimiin verrattuna. Ihmisen fysiologia, emotionaalisen tarkkaavaisuuden kehitys ja rasvahappojen ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden yhteyttä välittävät mekanismit ovat todennäköisesti monitahoisia, mikä voi osaltaan selittää havaittujen efektikokojen pienuutta. Lisäksi tämän tutkimuksen ollessa korrelatiivinen ei syy-seuraussuhdetta, yhteyttä välittäviä biologisia mekanismeja tai rasvahappojen mahdollisia kohteista aivoissa voida tulosten perusteella päätellä.

Suolistomikrobiomin ja emotionaalisen tarkkaavaisuuden yhteyksiä arvioitiin vain yhdessä ikäpisteessä. Koska kaikki lapset olivat samanikäisiä, saadaan tuloksista tärkeää tietoa nimenomaan tässä kehitysvaiheessa, mutta tulevissa tutkimuksissa tulisi hyödyntää pitkittäisasetelmaa yhteyksien kehityskulun ja pitkäaikaisempien vaikutusten arvioimiseksi. Tämän tutkimuksen tulokset kuitenkin viittaavat, että muokkaamalla lyhytkestoisten rasvahappojen pitoisuuksia esimerkiksi ravinnon ja prebioottien avulla voidaan mahdollisesti vaikuttaa myös emotionaaliseen tarkkaavaisuuteen ja sitä kautta laajemmin sosioemotionaaliseen kehitykseen ja sen riskeihin varhaisessa vaiheessa.

#### 4.5 Yhteenveto

Tässä tutkimuksessa saatiin ensimmäistä kertaa näyttöä suolistomikrobiston aineenvaihduntatuotteiden yhteydestä emotionaaliseen tarkkaavaisuuteen lapsuudessa. Haarautuneiden rasvahappojen ja voimakkaamman pelokkaisuuden kasvoihin suuntautuvan tarkkaavaisuuden yhteys oli sukupuolesta riippumaton. Valeraatti ja asetaatti korreloivat lisäksi pelokkaiden ja neutraalien kasvojen prosessoinnin kanssa eri tavoin tytöillä ja pojilla. Emotionaalisen tarkkaavaisuuden ja sen mahdollisten sukupuolierojen tausta on monimutkainen, mutta tämä tutkimus antaa lisätietoa suolistomikrobiston merkityksestä tässä kokonaisuudessa. Koska sekä suolistomikrobisto, että aivot ja käytökselliset vasteet ovat kahden ja puolen vuoden ikäisillä vielä kehittyvässä vaiheessa voisivat suolistomikrobiston muokkaamisen kohdennetut toimet olla tapa vaikuttaa kehityksen suuntaan. Vaikkakin yhteydet olivat heikkoja ja tutkimus luonteeltaan kartoittava, korostaa tutkimus tarvetta lisätutkimukselle havaittujen yhteyksien varmistamiseksi, niitä välittävien mekanismien ja aivojen tason kohteiden valaisemiseksi sekä ennen kaikkea yhteyksien sosioemotionaalisen ja kliinisen merkityksen selvittämiseksi.

## LÄHTEET

- Aatsinki, A.-K., Lahti, L., Uusitupa, H., Munukka, E., Keskitalo, A., Nolvi, S., O'Mahony, S.,..., & Karlsson, L. (2019). Gut microbiota composition is associated with temperament traits in infants. *Brain, Behavior, and Immunity*, *80*, 849–858. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.05.035>
- Aatsinki, A.-K., Kataja, E.-L., Munukka, E., Lahti, L., Keskitalo, A., Korja, R., Nolvi, S.,..., & Karlsson, L. (2022). Infant fecal microbiota composition and attention to emotional faces. *Emotion*, *22*(6), 1159–1170. <http://dx.doi.org/10.1037/emo0000924>.
- Aatsinki, A.-K., Keskitalo, A., Laitinen, V., Munukka, E., Uusitupa, H.-M., Lahti, L.,..., & Karlsson, L. (2020). Maternal prenatal psychological distress and hair cortisol levels associate with infant fecal microbiota composition at 2.5 months of age. *Psychoneuroendocrinology*, *119*, 104754. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104754>
- Aslin, R. N., & Salapatek, P. (1975). Saccadic localization of visual targets by the very young human infant. *Perception & Psychophysics*, *17*(3), 293–302. <https://doi.org/10.3758/BF03203214>
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeken, J., deRoos, P.,..., & Rudensky, A.Y. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, *504*(7480), 451–455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Bar-Haim, Y., Lamy, D., Pergamin, L., Bakermans-Kranenburg, M.J., & van IJzendoorn, M.H. (2007). Threat-Related Attentional Bias in Anxious and Nonanxious Individuals: A Meta-analytic Study. *Psychological Bulletin*, *133*(1), 1–24. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.133.1.1>
- Beck, A.T. (2008). The Evolution of the Cognitive Model of Depression and Its Neurobiological Correlates. *The American Journal of Psychiatry*, *165*(8), 969–977. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2008.08050721>.
- Braniste, V., Al-Asmakh, M., Kowal, C., Anuar, F., Abbaspour, A., Tóth, M.,..., & Pettersson, S. (2014). The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine*, *6*(263), 263ra158. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009759>
- Buffington, S.A., Di Prisco, G.V., Auchtung, T.A., Ajami, N.J., Petrosino, J.F., & Costa-Mattioli, M. (2016). Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. *Cell*, *165*, 1762–1775. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.001>
- Burokas, A., Arboleya, S., Moloney, R.D., Peterson, V.L., Murphy, K., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2017). Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biological Psychiatry*, *82*, 472–487. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.12.031>
- Burris, J.L., Barry-Anwar, R.A., Rivera, S.M. (2017). An Eye Tracking Investigation of Attentional Biases Towards Affect in Young Children. *Developmental Psychology*, *53*(8), 1418–1427. <http://dx.doi.org/10.1037/dev0000345>
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P.,..., & Wang, J. (2015). Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbiome*, *17*, 690–703. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.004>
- Carlson, A.L., Xia, K., Azcarate-Peril, M., Goldman, B.D., Ahn, M., Styner, M.A.,..., & Knickmeyer, R.C. (2018). Infant Gut Microbiome Associated with Cognitive Development. *Biological Psychiatry*, *83*(2), 148–159. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.06.021>
- Callaghan, B.L., Fields, A., Gee, D.G., Gabard-Durnam, L., Caldera, C., Humphreys, K.L.,..., & Tottenham, N. (2020). Mind and gut: Associations between mood and gastrointestinal distress in children exposed to adversity. *Development and Psychopathology*, *32*(1), 309–328. <https://doi.org/10.1017/S0954579419000087>



- 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*, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Canli, T., & Lesch, K.-L. (2007). Long story short: the serotonin transporter in emotion regulation and social cognition. *Nature neuroscience*, *10*(9), 1103–1109. <https://doi.org/10.1038/nn1964>
- Chen, T., Noto, D., Hoshino, Y., Mizuno, M., & Miyake, S. (2019). Butyrate suppresses demyelination and enhances remyelination. *Journal of Neuroinflammation*, *16*(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1552-y>
- Christian, L.M., Galley, J.D., Hade, E.M., Schoppe-Sullivan, S., D., Kamp Dush, C., & Bailey, M.T. (2015). Gut microbiome composition is associated with temperament during early childhood. *Brain, Behavior, and Immunity*, *45*, 118–127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.10.018>
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R.D., Shanahan, F.,..., & Cryan, J.F. (2013). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, *18*(6), 666–673. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.77>
- Cox, J.L., Holden, J.M., & Sagovsky, R. (1987). Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. *The British Journal of Psychiatry*, *150*(6), 782–786. <https://doi.org/10.1192/bjp.150.6.782>
- Cryan, J.F., O’Riordan, K.J., Cowan, C.S.M., Sandhu, K.V., Bastiaanssen, T.F.S., Boehme, M.,..., & Dinan, T.G. (2019). The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological Reviews*, *99*(4), 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P.E., & MacFarlane, G.T. (1987). Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, *28*(10), 1221–1227. <https://doi.org/10.1136/gut.28.10.1221>
- Dalile, B., Vervliet, B., Bergonzelli, G., Verbeke, K., & Van Oudenhove, L. (2020). Colon-delivered short-chain fatty acids attenuate the cortisol response to psychosocial stress in healthy men: a randomized, placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacology*, *45*(13), 2257–2266. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0732-x>
- De Filippo, C., Di Paola, M., Ramazotti, M., Albanese, D., Pieraccini, G., Banci, E.,..., & Lionetti, P. (2017). Diet, Environments, and Gut Microbiota. A Preliminary Investigation in Children Living in Rural and Urban Burkina Faso and Italy. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1979. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01979>
- Desbonnet, L., Clarke, G., Shanahan, F., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2014). Microbiota is essential for social development in the mouse. *Molecular Psychiatry*, *19*, 146–148. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.65>
- Dethlefsen, L., & Relman, D.A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses to the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(1), 4554–4561. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000087107>
- Dinan, T.G., Kennedy, P.J., Morais, L.H., Murphy, A., Long-Smith, C.M., Moloney, G.M.,..., & Cryan, J.F. (2022). Altered stress responses in adults born by Caesarean section. *Neurobiology of Stress*, *16*, 100425. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100425>
- Dudeny, J., Sharpe, L., & Hunt, C. (2015). Attentional bias towards threatening stimuli in children with anxiety: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, *40*, 66–75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpr.2015.05.007>
- Erny, D., Hrabě de Angelis, A.L., Jaitin, D., Weighofer, P., Staszewski, O., David, E.,..., & Schwierzeck, V. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*, *18*(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>

- Fernando, W.M.A.D.B, Martins, I.J., Morici, M., Bharadwaj, P., Rainey-Smith, S.R., Lim, W.L.F., & Martins, R.N. (2020). Sodium Butyrate Reduces Brain Amyloid- $\beta$  Levels and Improves Cognitive Memory Performance in an Alzheimer's Disease Transgenic Mouse Model at an Early Disease Stage. *Journal of Alzheimer's Disease*, *74*(1), 91–99. <https://doi.org/10.3233/JAD-190120>
- Forssman, L., Peltola, M. J., Yrttiaho, S., Puura, K., Mononen, N., Lehtimäki, T., & Leppänen, J. M. (2014). Regulatory variant of the TPH2 gene and early life stress are associated with heightened attention to social signals of fear in infants. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, *55*, 793–801. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12181>
- Fouhy, F., Watkins, C., Hill, C.J., O'Shea, C.-A., Nagle, B., Dempsey, E.M.,..., & Stanton, C. (2019). Perinatal factors affect the gut microbiota up to four years after birth. *Nature Communications*, *10*, 1517. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09252-4>
- Frost, G., Sleeth, M.L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L.,..., & Bell, J.D. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature Communications*, *5*, 3611. <https://doi.org/10.1038/ncomms4611>
- Gao, W., Salzwedel, A.P., Carlson, A.L., Xia, K., Azcarate-Peril, M.A., Styner, M.A.,..., & Knickmeyer, R.C. (2019). Gut Microbiome and Brain Functional Connectivity in Infants- A Preliminary Study Focusing on the Amygdala. *Psychopharmacology*, *236*, 1641–1651. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-5161-8>
- Gao, H., Shu, Q., Chen, J., Fan, K., Xu, P., Zhou, Q.,..., & Zheng, H. (2019). Antibiotic Exposure Has Sex-Dependent Effects on the Gut Microbiota and Metabolism of Short-Chain Fatty Acids and Amino Acids in Mice. *mSystems*, *4*(4), e00048-19. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00048-19>
- Goodrich, J.K., Davenport, E.R., Beaumont, M., Jackson, M.A., Knight, R., Ober, C.,..., & Ley, R.E. (2016). Genetic determinants of the gut microbiome in UK Twins. *Cell Host Microbiome*, *19*(5), 731–743. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.017>
- Haxby, J.V., Hoffman, E.A., & Gobbini, M.I. (2002). Human Neural Systems for Face Recognition and Social Communication. *Biological Psychiatry*, *51*, 59–67. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(01\)01330-0](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01330-0)
- Heck, A., Hock, A., White, H., Jubran, R., & Bhatt, R.S. (2016). The development of attention to dynamic facial emotions. *Journal of Experimental Child Psychology*, *147*, 100–110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jecp.2016.03.005>
- Henderson, H.A., & Wilson, M.J.G. (2017). Attention Processes Underlying Risk and Resilience in Behaviorally Inhibited Children. *Current Behavioral Neuroscience Reports*, *4*, 99–106. <https://doi.org/10.1007/s40473-017-0111-z>
- Hinnenbusch, B.F., Meng, S., Wu, J.T., Archer, S.Y., & Hodin, R.A. (2002). The Effects of Short-Chain Fatty Acids on Human Colon Cancer Cell Phenotype Are Associated with Histone Hyperacetylation. *The Journal of Nutrition*, *132*(5), 1012–1017. <https://doi.org/10.1093/jn/132.5.1012>
- Hoban, A.E., Stilling, R.M., Moloney, G., Shanahan, F., Dinan, T.G., Clarke, G., & Cryan, J.F. (2018). The microbiome regulates amygdala-dependent fear recall. *Molecular Psychiatry*, *23*(5), 1134–1144. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.100>
- Hoehl, S., & Striano, T. (2010). The development of emotional face and eye gaze processing. *Developmental Science*, *13*(6), 813–825. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2009.00944.x>
- Holi, M. M., Sammallahti, P. R., Aalberg, V. A. (1998). A Finnish validation study of the SCL-90. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *97*(1), 42–46. <https://doi:10.1111/j.1600-0447.1998.tb09961.x>
- Hollister, E.B., Riehle, K., Luna, R.A., Weidler, E.M., Rubio-Gonzales, M., Mistretta, T.-A.,..., & Versalovic, J. (2015). Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome*, *3*, 36, <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0101-x>

- Hugon, P., Dufour, J-C., Carlson, P., Fournier, P.-E., Sallah, K., & Raoult, D. (2015). A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *The Lancet Infectious Diseases*, *15*(10), 1211–1219. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00293-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00293-5)
- Huizink, A. C., Delforterie, M. J., Scheinin, N. M., Tolvanen, M., Karlsson, L., & Karlsson, H. (2016). Adaptation of pregnancy anxiety questionnaire—revised for all pregnant women regardless of parity: PRAQ-R2. *Archives of Women's Mental Health*, *19*(1), 125–132. <https://doi.org/10.1007/s00737-015-0531-2>
- Human Metabolome Database, Viitattu 2021, huhtikuu 27, <https://hmdb.ca>
- Jaggar, M., Rea, K., Spichak, S., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2020). You've got male: Sex and the microbiota-gut-brain axis across the lifespan. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *56*, 100815. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100815>
- Jašarević, E., Morrison, K.E., & Bale, T.L. (2016). Sex differences in the gut microbiome-brain axis across the lifespan. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, *371*, 20150122. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2015.0122>
- Jašarević, E., Howard, C.D., Misić, A.M., Beiting, D.P., & Bale, T.L. (2017). Stress during pregnancy alters temporal and spatial dynamics of the maternal and offspring microbiome in a sex-specific manner. *Scientific Reports*, *7*, 44182. <https://doi.org/10.1038/srep44182>
- Johnson, M. H., Dziurawiec, S., Ellis, H., & Morton, J. (1991). Newborns' preferential tracking of face-like stimuli and its subsequent decline. *Cognition*, *40*, 1–19. [https://doi.org/10.1016/0010-0277\(91\)90045-6](https://doi.org/10.1016/0010-0277(91)90045-6)
- Johnson, M. H., Senju, A., & Tomalski, P. (2015). The two-process theory of face processing: Modifications based on two decades of data from infants and adults. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *50*, 169–179. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.009>
- Karlsson, L., Tolvanen, M., Scheinin, N.M., Uusitupa, H-M., Korja, R., Ekholm, E., Karlsson, H., (2018). Cohort Profile: The FinnBrain Birth Cohort Study (FinnBrain). *International Journal of Epidemiology*, *47*, 15–16j. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx173>
- Kataja, E.- L., Karlsson, L., Leppänen, J. M., Pelto, J., Häikiö, T., Nolvi, S.,.....& Karlsson, H. (2020a). Maternal Depressive Symptoms During the Pre- and Postnatal Periods and Infant Attention to Emotional Faces. *Child Development*, *91*, e475–e490. <https://doi.org/10.1111/cdev.13152>
- Kataja, E.- L., Karlsson, L., Parsons, C. E., Pelto, J., Pesonen, H., Häikiö, ..., & Karlsson, H. (2019). Maternal pre- and postnatal anxiety symptoms and infant attention disengagement from emotional faces. *Journal of Affective Disorders*, *243*, 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.09.064>
- Kataja, E.-L., Leppänen, J.M., Kantojärvi, K., Pelto, J., Häikiö, T., Korja, R.,..., & Karlsson, L. (2020 b). The role of TPH2 variant rs4570625 in shaping infant attention to social signals. *Infant Behavior and Development*, *60*, 101471. <https://doi.org/10.1016/j.infbeh.2020.101471>
- Kelly, J.R., Allen, A.P., Temko, A., Hutch, W., Kennedy, P.J., Farid, N.,..., & Dinan, T.G. (2017). Lost in translation? The potential psychobiotic *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects. *Brain, Behavior, and Immunity*, *61*, 50–59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.018>
- Kimura, I., Ozawa, L., Inoue, D., Imamura, T., Kimura, K., Maeda, T.,..., & Tsujimoto, G. (2013). The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature Communications*, *4*, 1829. <https://doi.org/10.1038/ncomms2852>

- Kostic, A.D., Gevers, D., Siljander, H., Vatanen, T., Hyötyläinen, T., Hämäläinen, A.-M.,..., & Xavier, R.J. (2015). The Dynamics of the Human Infant Gut Microbiome in Development and in Progression toward Type 1 Diabetes. *Cell Host & Microbe*, *17*(2), 260–273. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.001>
- Kret, M.E., & De Gelder, B. (2012). A review on sex differences in processing emotional signals. *Neuropsychologia*, *50*, 1211–1221. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2011.12.022>
- Kriss, M., Hazleton, K.Z., Nusbacher, N.M., Martin, C.G., & Lozupone, C.A. (2018). Low Diversity Gut Microbiota Dysbiosis: Drivers, Functional Implications and Recovery. *Current Opinion in Microbiology*, *44*, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.07.003>
- Lahti, L., ym. (2012-2019). microbiome R package. <http://microbiome.github.io/microbiome>
- Lenroot, R.K., Gogtay, N., Greenstein, D.K., Molloy Wells, E., Wallace, G.L., Clase, L.S.,..., & Giedd, J.N. (2007). Sexual dimorphism of brain developmental trajectories during childhood and adolescence. *NeuroImage*, *36*(4), 1065–1073. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.03.053>
- Le Poul, E., Loison, C., Struyf, S., Springael, J-Y-, Lannoy, V., Decobecq, M.-E.,..., & Detheux, M. (2003). Functional Characterization of Human Receptors for Short Chain Fatty Acids and Their Role in Polymorphonuclear Cell Activation. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*(28), 25481–25489. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301403200>
- Leppänen, J.M. (2016). Using Eye Tracking to Understand Infants' Attentional Bias for Faces. *Child Development Perspectives*, *10*(3), 161–165. <https://doi.org/10.1111/cdep.12180>
- Leppänen, J. M., Cataldo, J. K., Bosquet Enlow, M. B., & Nelson, C. A. (2018). Early development of attention to threat-related facial expressions. *PLoS ONE*, *13*, e0197424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197424>
- Leppänen, J.M., Moulson, M.C., Vogel-Farley, V.K., & Nelson, C.A. (2007). An ERP Study of Emotional Face Processing in the Adult and Infant Brain. *Child Development*, *78*(1), 232245. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2007.00994.x>
- Leppänen, J. M., & Nelson, C. A. (2009). Tuning the developing brain to social signals of emotions. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(1), 37–47. <https://doi.org/10.1038/nrn2554>
- Leppänen, J.M., & Nelson, C.A. (2012). Early Development of Fear Processing. *Current Directions in Psychological Science*, *21*(3), 200–204. <https://doi.org/10.1177/0963721411435841>
- Litvak, Y., & Bäumlner, A.J. (2019). The founder hypothesis: A basis for microbiota resistance, diversity in taxa carriage, and colonization resistance against pathogens. *PLoS Pathogens*, *15*(2), e1007563. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007563>
- LoBue, V., & DeLoache, J.S. (2010). Superior detection of threat-relevant stimuli in infancy. *Developmental Science*, *13*(1), 221–228. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2009.00872.x>
- Loughman, A., Ponsonby, A.-L., O'Hely, M., Symeonides, C., Collier, F., Tang, M.L.K., ..., & Vuillermin, P. (2020a). Gut microbiota composition during infancy and subsequent behavioural outcomes. *EBioMedicine*, *52*, 102640. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102640>
- Loughman, A., Quinn, T., Nation, M.L., Reichelt, A., Moore, R.J., Van, T.T.H., ... Tang, M.L.K. (2020b). Infant microbiota in colic: predictive associations with problem crying and subsequent child behavior. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, *12*(2), 260–270. <https://doi.org/10.1017/S2040174420000227>
- Luczynski, P., Whelan, S.O., O'Sullivan, C., Clarke, G., Shanahan, F., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2016). Adult microbiota-deficient mice have distinct dendritic morphological changes: differential effects in the

amygdala and hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 44(9), 2654–2666.  
<https://doi.org/10.1111/ejn.13291>

MacFarlane, G.T., Cummings, J.H., & Allison, C. (1986). Protein Degradation by Human Intestinal Bacteria. *Journal of General Microbiology*, 132, 1647–1656. <https://doi.org/10.1099/00221287-132-6-1647>

Marusak, H.A., Carré, J.M., & Thomason, M.E. (2013). The stimuli drive the response: An fMRI study of youth processing adult or child emotional face stimuli. *NeuroImage*, 83, 679–689.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.07.002>

Marusak, H.A., Zundel, C.G., Brown, S., Rabinak, C.A., & Thomason, M.E. (2017). Convergent behavioral and corticolimbic connectivity evidence of a negativity bias in children and adolescents. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 12(4), 517–525. <https://doi.org/10.1093/scan/nsw182>

McMath, A., Iwinski, S., Bost, K., Khan, N., & Donovan, S. (2022, Julkaistua pian). Dietary Patterns, Fiber Intake and Microbial-Derived Isobutyrate Are Associated With Executive Function in Toddlerhood. *Current Developments in Nutrition*, 6(Issue Supplement 1), 690. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzac061.074>

Michels, N., Van de Wiele, T., & De Henauw, S. (2017). Chronic Psychosocial Stress and Gut Health in Children: Associations With Calprotectin and Fecal Short-Chain Fatty Acids. *Psychosomatic Medicine*, 79(8), 927–935. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000413>

Minagawa-Kawai, Y., Matsuoka, S., Dan, I., Naoi, N., Nakamura, K., & Kojima, S. (2009). Prefrontal Activation Associated with Social Attachment: Facial-Emotion Recognition in Mothers and Infants. *Cerebral Cortex*, 19(2), 284–292. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn081>

Morales, S., Brown, K.M., Taber-Thomas, B.C., LoBue, V., Buss, K.A., & Pérez-Edgar, K.E. (2017). Maternal Anxiety Predicts Attentional Bias Towards Threat in Infancy. *Emotion*, 17(5), 874–883.  
<https://doi.org/10.1037/emo0000275>

Morales, S., Fu, X., & Pérez-Edgar, K.E. (2016 a). A developmental neuroscience perspective on affect-biased attention. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 21, 26–41.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2016.08.001>

Morales, S., Pérez-Edgar, K.E., & Buss, K. (2016 b). Longitudinal relations among exuberance, externalizing behaviors, and attentional bias to reward: the mediating role of effortful control. *Developmental Science*, 19(5), 853–862. <https://doi.org/10.1111/desc.12320>

Morales, S., Miller, N.V., Troller-Renfree, S.V., White, L.K., Degnan, K.A., Henderson, H.A., & Fox, N.A. (2020). Attention bias to reward predicts behavioral problems and moderates early risk to externalizing and attention problems. *Development and Psychopathology*, 32(2), 397–409.  
<https://doi.org/10.1017/S0954579419000166>

Nakagawa, A., & Sukigara, M. (2012). Difficulty in disengaging from threat and temperamental negative affectivity in early life: A longitudinal study of infants aged 12–36 months. *Behavioral and Brain Functions*, 8(40). <https://doi.org/10.1186/1744-9081-8-40>

Nelson, C.A., & Dolgin, K.G. (1985). The Generalized Discrimination of Facial Expressions by Seven-Month-Old Infants. *Child Development*, 56(1), 58–61. <https://doi.org/10.2307/1130173>

Neufeld, K.-A.M., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J.A. (2011). Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior. *Communicative & Integrative Biology*, 4(4), 492–494.  
<https://doi.org/10.4161/cib.4.4.15702>

Oldendorf, W.H. (1973). Carrier-mediated blood-brain barrier transport of short-chain monocarboxylic organic acids. *American Journal of Physiology*, 224(6), 1450–1453.  
<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1973.224.6.1450>

Paija, S.-P. (2020). Kasvo- ja pelkoprosessointi kahdeksan ja 30 kuukauden iässä – tutkimus kehityksestä ja pysyvyydestä. [Pro gradu -tutkielma, Turun yliopisto]. UTUPub.<https://urn.fi/URN:NBN:fife2020062946378>

- Patnala, R., Arumugam, T.V., Gupta, N., & Dheen, S.T. (2017). HDAC Inhibitor Sodium Butyrate-Mediated Epigenetic Regulation Enhances Neuroprotective Function of Microglia During Ischemic Stroke. *Molecular Neurobiology*, *54*(8), 6391–6411. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0149-z>
- Peltola, M.J., Leppänen, J.M., Mäki, S., & Hietanen, J.K. (2009). Emergence of enhanced attention to fearful faces between 5 and 7 months of age. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, *4*(2), 134–142. <https://doi.org/10.1093/scan/nsn046>
- Peltola, M. J., Yrttiaho, S., & Leppänen, J. M. (2018). Infants' attention bias to faces as an early marker of social development. *Developmental Science*, *21*(6), e12687. <https://doi.org/10.1111/desc.12687>
- Pergamin-Hight, L., Bakermans-Kranenburg, M.J., van IJzendoorn, M.H., & Bar-Haim, Y. (2012). Variations in the Promoter Region of the Serotonin Transporter Gene and Biased Attention for Emotional Information: A Meta-Analysis. *Biological Psychiatry*, *71*(4), 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.10.030>
- Petersen, S.E., & Posner, M.I. (2012). The Attention System of the Human Brain: 20 Years After. *Annual Review of Neuroscience*, *35*, 73–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150525>.
- Posner, M.I., Rothbart, M.K., Sheese, B.E., & Voelker, P. (2014). Developing Attention: Behavioral and Brain Mechanisms. *Advances in Neuroscience*, *2014*, 405094. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/405094>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P.,..., & Glöckner, F.O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, *41*(Database issue), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Reigstad, C.S., Salmonson, C.E., Rainey, J.F., Szurszewski, J.H., Linden, D.R., Sonnenburg, J.L.,..., & Kashyap, P.C. (2015). Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *The FASEB Journal*, *29*(4), 1395–1403. <https://doi.org/10.1096/fj.14-259598>
- Rollins, L., Bertero, E., & Hunter, L. (2021). Developmental differences in the visual processing of emotionally ambiguous neutral faces based on perceived valence. *PLoS ONE*, *16*(8), e0256109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256109>
- Roswall, J., Olsson, L.M., Kovatcheva-Datchary, P., Nilsson, S., Tremaroli, V., Simon, M.-C.,..., & Bäckhed, F. (2021). Developmental trajectory of the healthy human gut microbiota during the first 5 years of life. *Cell Host & Microbe*, *29*(5), 765–776. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.02.021>
- Rothschild, D., Weissbrod, O., Barkan, E., Kurilshikov, A., Korem., T., Zeevi, D.,..., & Segal, E. (2018). Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*, *555*, 210–215. <https://doi.org/10.1038/nature25973>
- Ruba, A.L., & Pollak, S.D. (2020). The Development of Emotion Reasoning in Infancy and Early Childhood. *Annual Review of Developmental Psychology*, *2*, 503–531. <https://doi.org/10.1146/annurev-devpsych-060320-102556>
- Sarkar, A., Harty, S., Lehto, S.M., Moeller, A.H., Dinan, T.G., Dunbar, R.I.M., Cryan, J.F., & Burnet, P.W.J. (2018). The Microbiome in Psychology and Cognitive Neuroscience. *Trends in Cognitive Sciences*, *22*(7), 611–636. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.04.006>
- Saw, G., Krishna, K., Gupta, N., Soong, T.W., Mallilankaraman, K., Sajikumar, S., & Dheen, S.T. (2020). Epigenetic regulation of microglial phosphatidylinositol 3-kinase pathway involved in long-term potentiation and synaptic plasticity in rats. *Glia*, *68*(3), 656–669. <https://doi.org/10.1002/glia.23748>
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*, *14*(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Shade, A. (2017). Diversity is the question, not the answer. (2017). *The ISME Journal*, *11*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.118>.

- Shannon, C.E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(3), 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- Shechner, T., Britton, J.C., Pérez-Edgar, K., Bar-Haim, Y., Ernst, M., Fox, N.A.,..., & Pine, D.S. (2012). Attention biases, anxiety, and development: Toward or away from threats or rewards?. *Depression and Anxiety*, 29(4), 282–294. <https://doi.org/10.1002/da.20914>
- Simpson, E.A., Nicolini, Y., Shetler, M., Suomi, S.J., Ferrari, P.F., & Paukner, A. (2016). Experience-independent sex differences in newborn macaques: Females are more social than males. *Scientific Reports*, 6, 19669. <https://doi.org/10.1038/srep19669>
- Slykerman, R.F., Thompson, J., Waldie, K.E., Murphy, R., Wall, C., & Mitchell, E.A. (2017). Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatrica*, 106(1), 87–94. <https://doi.org/10.1111/apa.13613>
- Sordillo, J.E., Korricks, S., Laranjo, N., Carey, V., Weinstock, G.M., Gold, D.R.,..., & 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), <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.0905>
- Spichak, S., Donoso, F., Moloney, G.M., Gunnigle, E., Brown, J.M., Codagnone, M.,..., & Cryan, J.F. (2021). Microbially-derived short-chain fatty acids impact astrocyte gene expression in a sex-specific manner. *Brain, Behavior, & Immunity - Health*, 16, 100318. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2021.100318>
- Stewart, C.J., Ajami, N.J., O'Brien, J.L., Hutchinson, D.S., Smith, D.P., Wong, M.C.,..., & Petrosino, J.F. (2018). Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*, 562, 583–588. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0617-x>
- Stilling, R.M., Moloney, G.M., Ryan, F.J., Hoban, A.E., Bastiaanssen, T.F.S., Shanahan, F.,..., & Cryan, J.F. (2018). Social interaction-induced activation of RNA splicing in the amygdala of microbiome-deficient mice. *eLife*, 7, e33070. <https://doi.org/10.7554/eLife.33070>
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.,..., & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology*, 558(1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
- Szczesniak, O., Hestad, K.A., Hanssen, J.F., & Rudi, K. (2016). Isovaleric acid in stool correlates with human depression. *Nutritional Neuroscience*, 19(7), 279–283. <https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000007>
- Szklany, K., Wopereis, H., de Waard, C., van Wageningen, T., An, R., van Limpt, K.,..., & Kraneveld, A.D. (2020). Supplementation of dietary non-digestible oligosaccharides from birth onwards improve social and reduce anxiety-like behaviour in male BALB/c mice. *Nutritional Neuroscience*, 23(11), 896–910. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2019.1576362>
- Tarro, S. (2020). The Role of Gut Microbiota Diversity in Infant Attentional Processing of Emotional Faces at the Age of Eight Months. [Pro gradu -tutkielma, Turun yliopisto]. UTUPub. <https://urn.fi/URN:NBN:fi-fe2020051229558>
- Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B.,..., & Mayer, E.A. (2013). Consumption of Fermented Milk Product With Probiotic Modulates Brain Activity, *Gastroenterology*, 144(7), 1394–1401. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.043>
- Tillisch, K., Mayer, E., Gupta, A., Gill, Z., Brazeilles, R., Le Nevé, B.,..., & Labus, J. (2017). Brain structure and response to emotional stimuli as related to gut microbial profiles in healthy women. *Psychosomatic Medicine*, 79(8), 905–913. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000493>
- Tottenham, N., Phuong, J., Flannery, J., Gabard-Durnam, L., & Goff, B. (2013). A Negativity Bias for Ambiguous Facial Expression Valence during Childhood: Converging Evidence from Behavior and Facial Corrugator Muscle Responses. *Emotion*, 13(1), 92–103. <https://doi.org/10.1037/a0029431>

- Trimigno, A., Khakimov, B., Majia, J.L.C., Mikkelsen, M.S., Kristensen, M., Jespersen, B.M., & Engelsen, S.B. (2017). Identification of weak and gender specific effects in a short 3 weeks intervention study using barley and oat mixed linkage  $\beta$ -glucan dietary supplements: a human fecal metabolome study by GC-MS. *Metabolomics*, *13*(10), 108. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1247-2>.
- Troller-Renfree, S., McLaughlin, K.A., Sheridan, M.A., Nelson, C.A., Zeanah, C.H., & Fox, N.A. (2017). The beneficial effects of a positive attention bias amongst children with a history of psychosocial deprivation. *Biological Psychology*, *122*, 110–120. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2016.04.008>
- Tuomisto, H. (2010). A consistent terminology for quantifying species diversity? Yes, it does exist. *Oecologia*, *164*(4), 853–860. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1812-0>.
- Tun, H.M., Konya, T., Takaro, T.K., Brook, J.R., Chari, R., Field, C.J.,..., & CHILD Study Investigators. (2017). Exposure to household furry pets influence the gut microbiota of infants at 3–4 months following various birth scenarios. *Microbiome*, *5*(1),40. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0254-x>
- Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B.M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A.,..., & Pontén, F. (2015). Tissue-based map of the human proteome, *Science*, *347*(6220), 1260419. <https://doi.org/10.1126/science.1260419>
- Vaish, A., Grossmann, T., & Woodward, A. (2008). Not all emotions are created equal: The negativity bias in social-emotional development, *Psychological Bulletin*, *134*(3), 383–403. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.134.3.383>
- van de Wouw, M., Boehme, M., Lyte, J.M., Wiley, N., Strain, C., O’Sullivan, O., ..., & Cryan, J.F. (2018). Short-chain fatty acids:microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations, *The Journal of Physiology*, *596*(20), 4923–4944. <https://doi.org/10.1113/JP276431>
- van de Wouw, M., Wang, Y., Workentine, M.L., Vaghef-Mehrabani, E., Dewey, D., Reimer, R.A.,..., & Giesbrecht, G.F. (2022). Associations Between the Gut Microbiota and Internalizing Behaviors in Preschool Children. *Psychosomatic Medicine*, *84*(2), 159–169. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000001026>
- Vinarskaya, A.K., Balaban, P.M., Roshchin, M.V., & Zuzina, A.B. (2021). Sodium butyrate as a selective cognitive enhancer for weak or impaired memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *180*, 107414. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107414>
- Vinolo, M.A.R., Rodrigues, H.G., Nachbar, R.T., & Curi, R. (2011). Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients*, *3*(10), 858–876. <https://doi.org/10.3390/nu3100858>
- Wang, Y., Li, N., Yang, J.-J., Zhao, D.-M., Chen, B., Zhang, G.-Q.,..., & Gai, Z.-T. (2020). Probiotics and fructo-oligosaccharide intervention modulate the microbiota-gut brain axis to improve autism spectrum reducing also the hyperserotonergic state and the dopamine metabolism disorder. *Pharmacological Research*, *157*, 104784. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104784>
- Waters, A.M., Pittaway, M., Mogg, K., Bradley, B.P., & Pine, D.S. (2013). Attention training towards positive stimuli in clinically anxious children. *Developmental Cognitive Neuroscience*, *4*, 77–84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2012.09.004>
- Wong, J.M.W., de Souza, R., Kendall, C.W.C., Emam, A., & Jenkins, D.J.A. (2006). Colonic Health: Fermentation and Short Chain Fatty Acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *40*(3), 235–243. <https://doi.org/10.1097/00004836-200603000-00015>
- Wu, M., Tian, T., Mao, Q., Zou, T., Zhou, C.,..., & Chen, J. (2020). Associations between disordered gut microbiota and changes of neurotransmitters and short-chain fatty acids in depressed mice. *Translational Psychiatry*, *10*, 350. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01038-3>
- Yan, H., & Ajuwon, K.M. (2017). Butyrate modifies intestinal barrier function in IPEC-J2 cells through a selective upregulation of tight junction proteins and activation of the Akt signaling pathway. *PLoS ONE*, *12*(6), e0179586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179586>



Yang, W., Yu, T., Huang, X., Bilotta, A.J., Xu, L., Lu, L.,..., & Cong, Y. (2020). Intestinal microbiota-derived short-chain fatty acids regulation of immune cell IL-22 production and gut immunity. *Nature Communications*, *11*(1), 4457. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18262-6>