



UHASSELT

KNOWLEDGE IN ACTION

Faculteit Revalidatiewetenschappen

master in de revalidatiewetenschappen en de kinesietherapie

Masterthesis

Optimalisatie van tDCS parameters voor motorisch sequentieel leren bij gezonde jongeren

Sander De Weerd

Sepe Drijvers

Scriptie ingediend tot het behalen van de graad van master in de revalidatiewetenschappen en de kinesietherapie, afstudeerrichting revalidatiewetenschappen en kinesietherapie bij musculoskeletale aandoeningen

PROMOTOR :

dr. Kim VAN DUN



UHASSELT

KNOWLEDGE IN ACTION

www.uhasselt.be
Universiteit Hasselt
Campus Hasselt:
Martelarenlaan 42 | 3500 Hasselt
Campus Diepenbeek:
Agoralaan Gebouw D | 3590 Diepenbeek

2020
2021



Faculteit Revalidatiewetenschappen

master in de revalidatiewetenschappen en de
kinesitherapie

Masterthesis

Optimalisatie van tDCS parameters voor motorisch sequentieel leren bij gezonde jongeren

Sander De Weerd

Seppe Drijvers

Scriptie ingediend tot het behalen van de graad van master in de revalidatiewetenschappen en de kinesitherapie, afstudeerrichting revalidatiewetenschappen en kinesitherapie bij musculoskeletale aandoeningen

PROMOTOR :

dr. Kim VAN DUN

Woord vooraf

Eerst willen we graag onze onderzoeksgroep bedanken voor het aanreiken van dit interessante topic. Ten tweede zijn we zeer dankbaar voor de inzet van de collega's uit Dortmund, die een groot deel van de datacollectie volbracht hebben. Als laatste willen we dank betuigen aan onze promotor Dr. Kim Van Dun voor de nodige feedback en assistentie tijdens het uitvoeren en schrijven van deze masterproef.

Bredeweg 7, 3630 Maasmechelen, 07/06/2021

S. D. W.

Keelstraat 13, 3290 Diest, 07/06/2021

S. D.

Situering

Deze masterproef kadert binnen het onderzoeksdomein van de neurologische revalidatie. Onder neurologische revalidatie verstaat men de revalidatie van een aandoening aan de hersenen, zenuwen of spieren als gevolg van bijvoorbeeld een ongeval, een dwarslaesie, een beroerte, MS, Parkinson of ALS. Motorisch sequentieel leren is belangrijk voor iedereen, in het dagelijks leven, bij topsporters, maar ook bij de behandeling van neurologische patiënten. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) is een niet-invasieve vorm van hersenstimulatie waarbij gebruik gemaakt wordt van gelijkstroom om specifieke hersenregio's te stimuleren. Deze vorm van stimulatie kan het motorisch sequentieel leren beïnvloeden. Om deze reden zou tDCS een belangrijke rol kunnen spelen bij de revalidatie van neurologische patiënten.

De masterproef situeert zich binnen een lopend onderzoeksproject, namelijk een joint PhD met Dortmund. In de bepaling van het onderzoeksdesign en de methode hebben de studenten geen aandeel gehad. De rekrutering en data-acquisitie verliep met enige medewerking van de studenten. Verder hebben de studenten, naast feedback van de promotor, zelfstandig de dataverwerking uitgevoerd en het academisch schrijfproces voor hun rekening genomen.

1 Abstract

Achtergrond: Motorisch sequentieel leren is van belang bij tal van dagelijkse activiteiten, alsook in de neurologische revalidatie. Door transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) toe te dienen op de primaire motorische cortex (M1) kan het impliciet motorisch sequentieel leren verbeterd worden. tDCS is een methode waarbij een zwakke gelijkstroom de werking van de hersencellen beïnvloedt. Impliciet leren van een taak gebeurt wanneer we onbewust verbeteren in deze taak zonder ons hier op te focussen.

Doelstellingen: Dit onderzoek tracht de optimale intensiteit van anodale tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren bij gezonde jongeren te achterhalen.

Participanten: In totaal zijn er 13 gezonde personen gerekruteerd, waarvan 12 uit Duitsland en 1 uit België. De gemiddelde leeftijd van de participanten bedraagt 25.31 jaar. De studie bevat 7 mannen en 6 vrouwen. Alle participanten voldoen aan de in- en exclusiecriteria en krijgen in deze studie met cross-over design de vier stimulatiecondities (sham, 1 mA, 2 mA en 3 mA) toegediend.

Metingen: Het onderzoek bestaat uit 4 sessies van telkens 2 dagen. Aan de hand van de Serial Reaction Time Task (SRTT) wordt er gekeken naar de volgende uitkomstmaten: reactietijd (RT), skill en bijwerkingen van tDCS.

Resultaten: Zowel voor RT als skill is er geen effect van stimulatieconditie ($p > 0.05$), alsook geen interactie-effect van blok x stimulatieconditie ($p > 0.05$). Er zijn geen statistische verschillen gevonden tussen de stimulatiecondities op vlak van bijwerkingen ($p = 0.2386$).

Conclusie: In dit onderzoek is er geen invloed gevonden van de intensiteit van anodale tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren. Verder onderzoek is noodzakelijk.

Sleutelwoorden: Transcranial Direct Current Stimulation, Serial Reaction Time Task, motorisch sequentieel leren.

2 Inleiding

Motorisch sequentieel leren verwijst in grote lijnen naar het proces waarbij een reeks bewegingen sneller en nauwkeuriger worden uitgevoerd dan voorheen. Door het vaak herhalen van dezelfde sequentie van bewegingen, worden deze bewegingen ingeslepen in de hersenen. Een concreet voorbeeld van motorisch sequentieel leren in de topsport is het polsstokspringen. Om een succesvolle sprong te kunnen maken, gaan er een reeks complexe handelingen aan vooraf. Motorisch sequentieel leren kan opgedeeld worden in motorisch leren en sequentieel (sequentie-specifiek) leren. Leren van motorische vaardigheden wijst op het sneller uitvoeren van de taak door meer te oefenen, sequentie-specifiek leren wijst op het sneller uitvoeren van de taak door de verworven sequentie-specifieke kennis (Meier & Cock, 2014; Song, J. Howard, & D. Howard, 2007).

Motorisch leren wordt over het algemeen gedefinieerd als een reeks processen die gericht zijn op het leren en verfijnen van nieuwe vaardigheden door ze te oefenen. Motorische leerprocessen zijn strikt afhankelijk van de structurele integriteit en functionele activiteit van de cortico-striatale lus en het cerebellum (Nieuwboer, Rochester, Muncks, & Swinnen, 2009). Door anderen wordt motorisch leren dan weer gedefinieerd als het vermogen van een individu om motorische vaardigheden te verwerven waarbij een relatief permanente verandering optreedt (Schmidt & Wrisberg, 2008).

Men kan zich niet of nauwelijks bewust zijn van het leren van een nieuwe vaardigheid (impliciet leren) of men kan zich net wel bewust zijn van het leren van een nieuwe vaardigheid (expliciet leren). Impliciet sequentieel leren verwijst naar verbetering van de prestaties van de sequentie zonder bewuste informatie over de elementen van de sequentie. Daarentegen gaat expliciet sequentieel leren gepaard met een expliciete bewuste herinnering van elk element en zijn volgorde in de reeks (Robertson, 2009; Squire, 1986; Vidoni & Boyd, 2007). Impliciet sequentieel leren is voornamelijk geassocieerd met activiteit in de contralaterale sensorische cortex en primaire motorische cortex (M1) (Pascual-Leone, Grafman, & Hallett, 1994). Echter, expliciete kennis over de geoefende sequentie is geassocieerd met activiteit in de dorsale premotorische cortex, dorsolaterale prefrontale cortex en de supplementaire motorische cortex (Honda et al., 1998; Robertson; Vidoni & Boyd). M1 speelt een cruciale rol in de acquisitie en vroege consolidatie van een motorische sequentie (Antal et al., 2004; Karni et al., 1995; Lu & Ashe, 2005; Muellbacher et al., 2002; Pascual-Leone, Grafman, & Hallett;

Rosenthal, Roche-Kelly, Husain, & Kennard, 2009; Ungerleider, Doyon, & Karni, 2002; Wilkinson, Teo, Obeso, Rothwell, & Jahanshahi, 2010).

Om motorisch sequentieel leren te evalueren wordt er vaak gebruik gemaakt van de Serial Reaction Time Task (SRTT) (Ambrus et al., 2016; Jonkees et al., 2019; Kantak, Mummidisetty, & Stinear, 2012; Keitel, Øfsteng, Krause, & Pollok, 2018; Talimkhani, Abdollahi, Zoghi, Ghane, & Jaberzadeh, 2018; Talimkhani et al., 2019). Bij deze taak wordt er aan de deelnemers gevraagd om zo snel mogelijk te reageren op gegeven stimuli. Volgens Nissen en Bullemer (1987) is de SRTT een goede maatstaf voor het beoordelen van impliciet motorisch sequentieel leren. Wanneer proefpersonen een motor skill finger-tapping task uitvoeren en slapen tussen trainingssessies, treden er na de rustfase extra prestatieverbeteringen op (Walker, Brakefield, Hobson, & Stickgold, 2003). Dit suggereert dat het motorisch systeem in staat is tot een vorm van "zelf repetitie" tijdens de slaap (Luft & Buitrago, 2005). Deze vorm van "zelf repetitie" wordt ook wel consolidatie genoemd. Consolidatie vindt zowel tijdens als na de training plaats.

Motorisch sequentieel leren kan beïnvloed worden door gebruik te maken van transcranial Direct Current Stimulation (tDCS). Dit is een niet-invasieve vorm van hersenstimulatie waarbij gebruik gemaakt wordt van gelijkstroom om specifieke hersenregio's te stimuleren. Bij deze techniek wordt minstens één van de twee elektrodes, anode en/of kathode, op het hoofd geplaatst. Door het toedienen van stroom tussen deze twee elektrodes kan tDCS de corticale prikkelbaarheid moduleren (Nitsche & Paulus, 2000; Nitsche & Paulus, 2001). Eerder onderzoek toont aan dat anodale tDCS over M1 de prikkelbaarheid van M1 vergroot en kathodale tDCS deze verkleint (Nitsche & Paulus, 2000). Bij sham stimulatie wordt er een korte stimulatie aan lage intensiteit gegeven waardoor de proefpersonen de cutane sensatie van een echte stimulatie ervaren. Op deze manier denkt men een echte stimulatie te krijgen gedurende heel het onderzoek waardoor er gekeken kan worden naar het placebo-effect (Fonteneau et al., 2019). In dit onderzoek wordt er gestimuleerd met anodale tDCS over M1, aangezien dit het motorisch sequentieel leren positief zou kunnen beïnvloeden. Tot op de dag van vandaag is er geen consensus over het effect van tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren (Debarnot et al., 2019). Verschillende studies hebben aangetoond dat zowel anodale als kathodale tDCS over M1 geen invloed hebben op motoriek. Anodale tDCS over de contralaterale M1 lijkt pas na 24 uur follow-up een invloed te hebben op sequentieel leren

terwijl kathodale tDCS geen invloed zou hebben op sequentieel leren (Ambrus et al., 2016; Debarnot et al.; Katak et al., 2012; Keitel et al., 2018; Nitsche et al., 2003).

De optimale parameters van anodale tDCS voor het verbeteren van motorisch sequentieel leren bij een gezonde volwassen populatie zijn nog niet gekend. In dit onderzoek wordt er gekeken naar de invloed van de intensiteit van anodale tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren. Uit voorgaand onderzoek blijkt dat stimulatie met tDCS over M1 met een intensiteit van 0.25 mA, een negatieve invloed heeft op sequentieel leren (Keitel et al., 2018), terwijl stimulatie met een intensiteit van 2 mA zorgde voor een verbetering van het sequentieel leren (Debarnot et al., 2019). Daarom veronderstellen wij dat een hogere intensiteit van tDCS zal zorgen voor een grotere positieve invloed op motorisch sequentieel leren tijdens de stimulatie. Na 24u retentie verwachten we dat er geen verschil zal zijn in motorisch sequentieel leren tussen de stimulatiecondities. Dit omdat zowel stimulatie met 1 mA (Katak et al., 2012) als stimulatie met 2 mA (Debarnot et al., 2019) over M1, na 24u retentie een positieve invloed heeft op sequentieel leren.

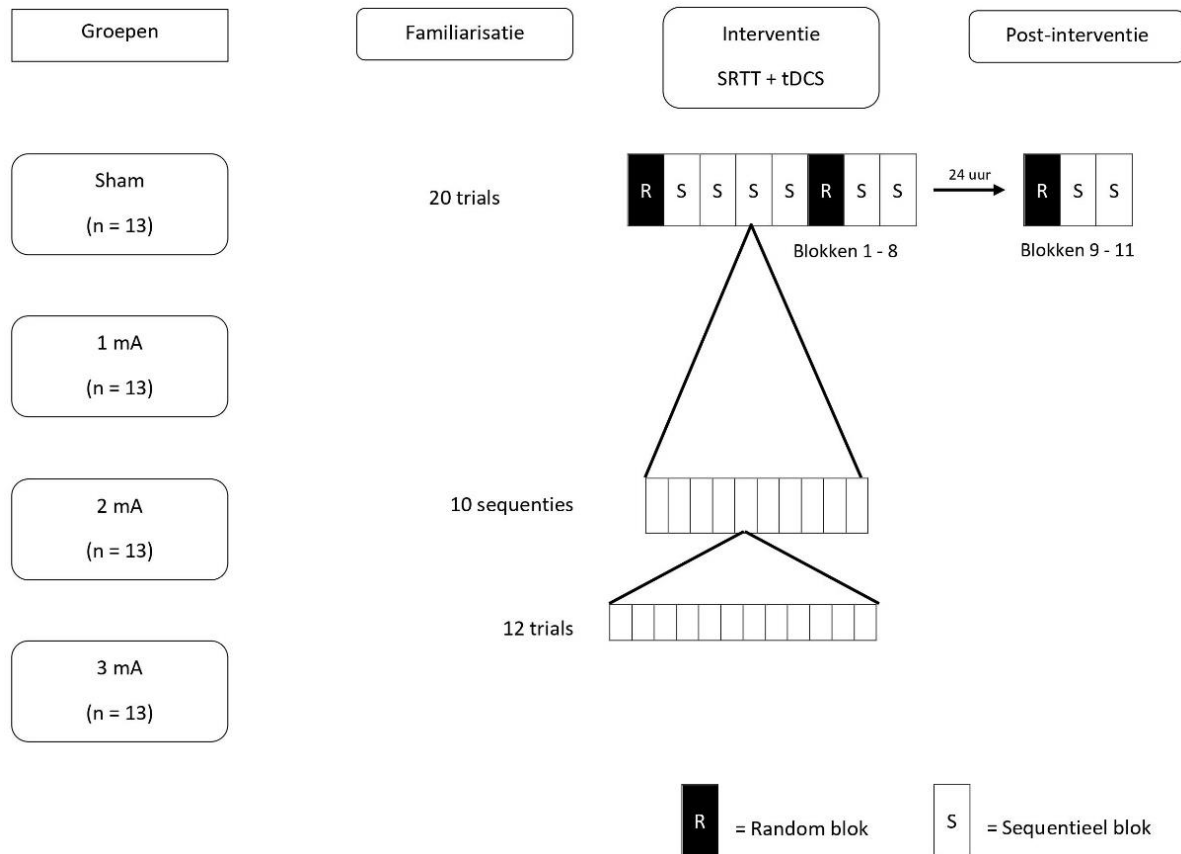
3 Methode

3.1 Participanten

De rekrutering van de participanten in België gebeurt door middel van flyers, sociale media en individuele rekrutering van familie en vrienden door masterstudenten. In Duitsland worden de participanten voornamelijk gerekruteerd via advertenties in de kranten. Een aantal participanten worden in Dortmund (Duitsland) gerekruteerd en getest. De inclusiecriteria zijn: a) leeftijd tussen 18 en 50 jaar; b) rechtshandig; c) gezond. De exclusiecriteria zijn: a) zichtproblemen; b) kleurenblindheid; c) gehoorproblemen; d) hersenschade of schedelbreuk in het verleden; e) pacemaker of geïmplanteerde elektrodes; f) metalen implantaten in hoofd of nek; g) voorgeschiedenis van epilepsie; h) zwangerschap; i) neurologische aandoening, psychiatrische aandoening of cognitieve stoornissen; j) nemen van medicatie die een effect kunnen hebben op het centrale zenuwstelsel of kunnen interageren met lidocaïne; k) allergie voor lidocaïne, prilocaïne of macroglycylglycerolhydroxystearaat.

Deze studie voldoet aan de normen met betrekking tot onderzoek op mensen, volgens de Declaration of Helsinki. Ook is ze goedgekeurd door het Comité voor Medische Ethiek (CME) van de faculteit Geneeskunde en Levenswetenschappen te UHasselt. Het kenmerk van CME is CME2019/010 met Belgisch nummer B9115201939823.

3.2 Procedure



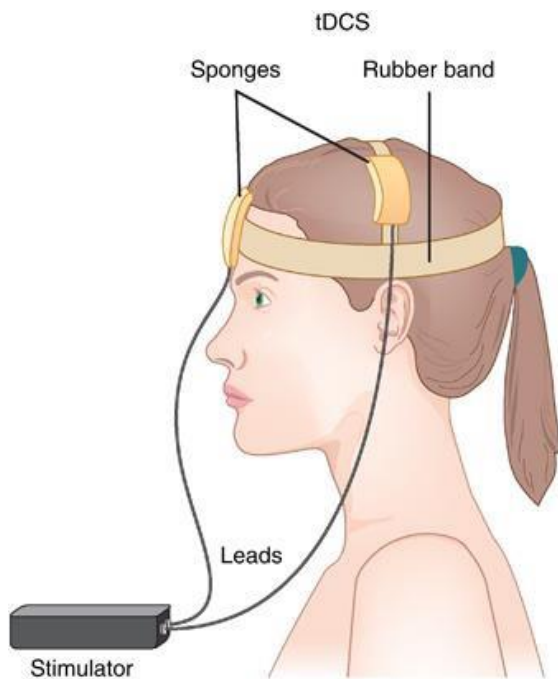
Figuur 1. Overzicht experimentele set-up.

Deze studie maakt gebruik van een gerandomiseerde, dubbel-geblindeerde sham gecontroleerde methode. De studie bestaat uit vier sessies van telkens twee opeenvolgende dagen, waarbij de participant elke sessie een andere intensiteit van tDCS (1 mA, 2 mA, 3 mA) of sham toegediend krijgt.

Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS)

In dit onderzoek wordt de anode geplaatst op de linker M1 (C3, international 10-20 system) en de kathode op de rechter supraorbitale regio (Fp2, international 10-20 system) (zie figuur 2). De sponzen die gebruikt worden, hebben een oppervlakte van 35 cm² (5 cm x 7 cm). De tDCS wordt toegediend door middel van een constant-current stimulator (neuroConn DC Stimulator Plus, Ilmenau, Duitsland). De participanten krijgen elke sessie een andere intensiteit van stimulatie waarvan de volgorde pseudo gerandomiseerd is. De vier verschillende condities zijn 1 mA, 2 mA, 3 mA en sham. Bij de stimulaties met 1 mA, 2 mA en

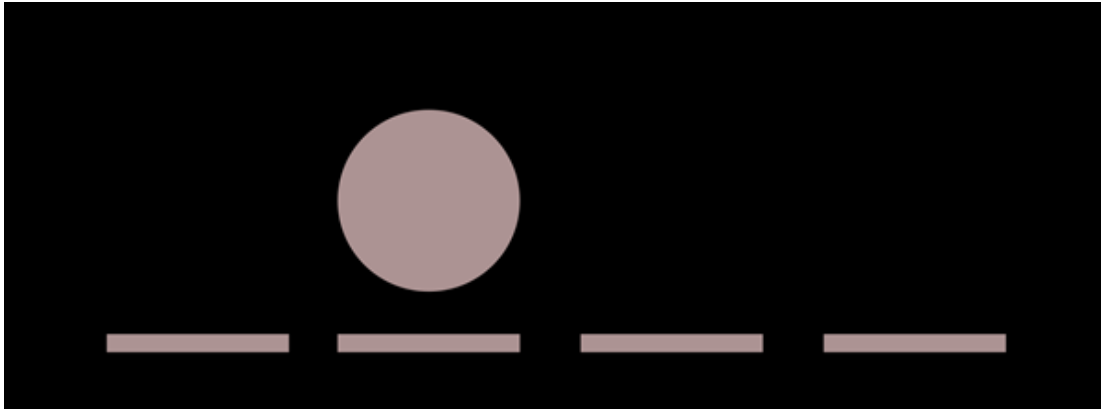
3 mA is er eerst een ramp-up van 30 seconden en op het einde een ramp-down van 30 seconden. Bij sham stimulatie is er ook een ramp-up van 30 seconden naar 1 mA, meteen gevolgd door een ramp-down van 30 seconden. De condities zijn voorgeprogrammeerd in het tDCS toestel met een code zodat zowel de participant als de onderzoeker niet op de hoogte zijn van de stimulatieconditie.



Figuur 2. Lokalisatie van de sponzen (Rosa & Lisanby, 2011).

Serial Reaction Time Task (SRTT)

Bij de SRTT worden er op een computerscherm vier streepjes getoond. Boven één van de vier streepjes verschijnt er telkens een cue in de vorm van een bolletje (“●”) (zie figuur 3). De vier streepjes komen overeen met vier toetsen op het toetsenbord (f, g, h en j). De overeenkomstige toets moet zo snel mogelijk ingedrukt worden met behulp van de rechterhand (respectievelijk met de wijsvinger, middelvinger, ringvinger en pink). Wanneer een toets ingedrukt wordt, verschijnt er na 500 ms een nieuwe cue.



Figuur 3. Schermafbeelding SRTT.

De test is opgebouwd uit een opeenvolging van trials die samen blokken vormen. Blokken 2 tot en met 5 en blokken 7 en 8 zijn sequentiële blokken. Dit betekent dat de visuele cues in een vaste volgorde worden getoond, die zichzelf ettelijke keren herhaalt. De participanten worden niet op de hoogte gebracht van de aanwezigheid van sequenties, dit om impliciet leren te bekomen. In dit onderzoek wordt er gebruik gemaakt van een 12 trial sequentie die zichzelf in één blok 10 maal herhaalt. In elke sessie is deze 12 trial sequentie anders, om leren over de sessies heen te vermijden. Blok 1 en 6 zijn pseudo gerandomiseerd, wat betekent dat de opeenvolging van visuele cues geen patroon vertoont maar willekeurig is.

Om de invloed op motorische vaardigheden te evalueren, worden twee random blokken met elkaar vergeleken, bijvoorbeeld blok 1 en 6. Om de invloed op sequentie-specifiek leren te achterhalen, wordt een random blok met een sequentieel blok vergeleken, bijvoorbeeld blok 5 en 6.

Protocol

De eerste dag van sessie één wordt er eerst uitleg gegeven over het experiment, het informed consent wordt getekend, er wordt een vragenlijst ingevuld ter controle van de in- en exclusiecriteria (zie bijlage 1) en de Montreal Cognitive Assessment (MoCa) wordt afgenomen om cognitieve functies na te gaan. Vervolgens wordt verdovende zalf aangebracht op de plaatsen waar de sponzen zullen worden bevestigd, dit zowel om de stimulatie comfortabeler te maken als voor blinding. Hierna start een familiarisatie van de SRTT van 20 trials. Vervolgens worden de sponzen, bevochtigd met een zoutoplossing om geleiding te verbeteren, op het hoofd geplaatst. Dan wordt de SRTT gestart, die bestaat uit een reeks van

8 blokken van 120 trials, waarbij gelijktijdig tDCS aan een bepaalde intensiteit wordt toegediend (duur: ongeveer 20 minuten). Daarna worden de sponzen verwijderd en wordt er een vragenlijst (zie bijlage 2) ingevuld over de ervaring van de stroom. Dag één van elke sessie bestaat uit het aanbrengen van de verdovende zalf, het plaatsen van de sponzen en het uitvoeren van de SRTT. Dag twee bestaat telkens uit een verkorte SRTT van drie blokken (blokken 9 t.e.m. 11) van 120 trials zonder stimulatie om consolidatie na te gaan. Tussen de vier sessies zitten minimaal zeven en maximaal 14 dagen. Na dag twee van de vierde sessie wordt er gevraagd of de participant iets opgemerkt heeft aan de taak om expliciet leren na te gaan. Dit wordt verder besproken in de resultaten.

Uitkomstmaten

De primaire uitkomstmaat van deze studie is de gemiddelde reactietijd (RT) per blok. Aan de hand van deze uitkomstmaat is het mogelijk om de invloed van de intensiteit van tDCS op het leren van motorische vaardigheden en het sequentie-specifiek leren te bepalen. De RT wordt gedefinieerd als de tijd tussen het verschijnen van de cue en het indrukken van de toets.

De secundaire uitkomstmaat van deze studie is skill (Talimkhani et al., 2018; Talimkhani et al., 2019). Dit is het percentage juiste sequenties gedeeld door de gemiddelde RT per blok. Aan de hand van deze variabele kan er gekeken worden naar de accuraatheid en de snelheid van de uitvoering tegelijkertijd. Ook bij deze variabele wordt er een onderscheid gemaakt tussen het leren van motorische vaardigheden en het sequentie-specifiek leren.

De tertiaire uitkomstmaat van deze studie is bijwerkingen van tDCS. De participanten rapporteren eventuele bijwerkingen aan de hand van een vragenlijst (zie bijlage 2). Hier wordt voor elk item de intensiteit gescoord op een schaal van 0 tot 5, waarbij 0 staat voor “niet van toepassing” en 5 voor “helemaal mee eens”. Bij de verdere analyse van deze uitkomstmaat wordt er telkens rekening gehouden met de intensiteit.

3.3 Data-analyse

Om een onderscheid te kunnen maken tussen motorisch leren en sequentie-specifiek leren wordt gebruik gemaakt van de methode van Savic en Meijer (2016). Om het effect op het leren van motorische vaardigheden na te gaan wordt zowel de RT als skill van blok 1 vergeleken met blok 6. De RT en skill van blok 9 wordt vergeleken met blok 6 om het effect op motorische vaardigheden na 24u retentie te evalueren. Echter, om het effect op sequentie-specifiek leren na te gaan wordt zowel de RT als skill van blok 5 vergeleken met blok 6. De RT en skill van blok 11 wordt vergeleken met blok 6 om het effect op sequentie-specifiek leren na 24u retentie te evalueren. Zie tabel 1 voor een overzicht van deze methode.

Tabel 1

Overzicht methode data-analyse

Definitie	Vergelijking blokken
Leren van motorische vaardigheden	Blok 1 - blok 6
Leren van motorische vaardigheden na 24u retentie	Blok 9 - blok 6
Sequentie-specifiek leren	Blok 5 - blok 6
Sequentie-specifiek leren na 24u retentie	Blok 11 - blok 6

De data wordt blind geanalyseerd met behulp van SAS JMP versie 15.2. Normaalverdeling van de conditionele residuen wordt nagegaan aan de hand van de Shapiro-Wilk Test. De homoscedasticiteit wordt gecontroleerd aan de hand van de conditional residuals by predicted plot.

Er zijn twee onafhankelijke variabelen, namelijk de stimulatiecondities (1 mA, 2 mA, 3 mA en sham) en de blokken (blok 1, 5, 6, 9 en 11), de deelnemers worden toegevoegd als random effect. Het effect van deze drie variabelen op het leren van motorische vaardigheden en sequentie-specifiek leren, wordt geëvalueerd door middel van een mixed model voor zowel RT als skill. Eerst wordt er gekeken naar het interactie-effect van blok x stimulatieconditie, en de hoofdeffecten van blok en stimulatie. Voor de effecten die significant zijn, wordt een Tukey post hoc test uitgevoerd om te kijken welke parameters significant van elkaar verschillen. De drempelwaarde voor significantie ligt op $p < 0.05$.

Om een verschil in bijwerkingen tussen de stimulatiecondities te evalueren, wordt een mixed model toegepast met als Y-variabele de intensiteit van de bijwerkingen. Hierbij is de stimulatieconditie (1 mA, 2 mA, 3 mA en sham) een onafhankelijke variabele, de deelnemers worden toegevoegd als random effect. Hierna wordt de Tukey post hoc test uitgevoerd indien

het effect van stimulatieconditie significant is. De drempelwaarde voor significantie ligt op $p < 0.05$.

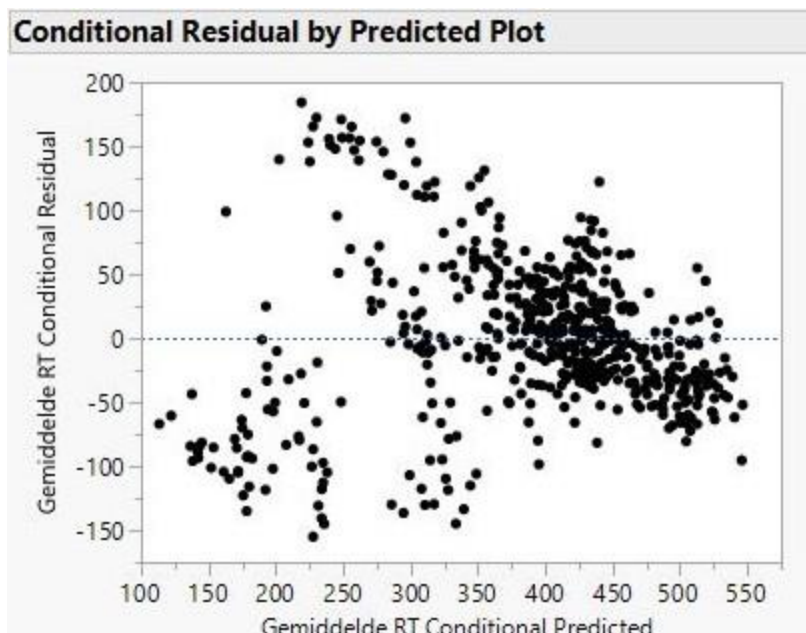
4 Resultaten

4.1 Demografische gegevens

In het totaal zijn er 13 personen gerekruteerd, waarvan 12 in Duitsland en 1 in België. De gemiddelde leeftijd van de participanten is 25.31 jaar met een standaarddeviatie van 1.88. De leeftijden variëren van 22 tot en met 28 jaar. Van de 13 participanten zijn er 7 mannen en 6 vrouwen.

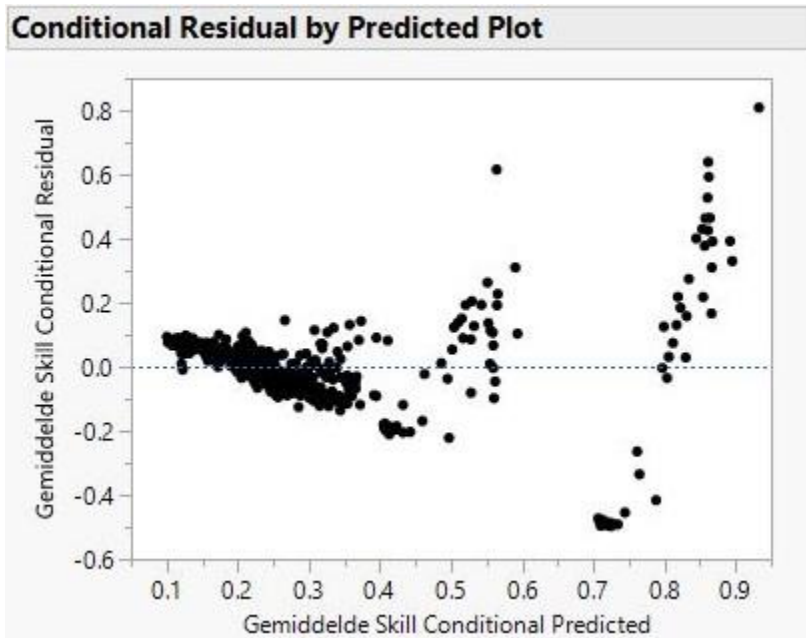
4.2 Normaalverdeling en homoscedasticiteit

Wanneer gekeken wordt naar de normaalverdeling van de RT ziet men dat er geen sprake is van een normale verdeling ($p < 0.0001$). Figuur 4 geeft weer dat er ook geen sprake is van homoscedasticiteit bij RT.



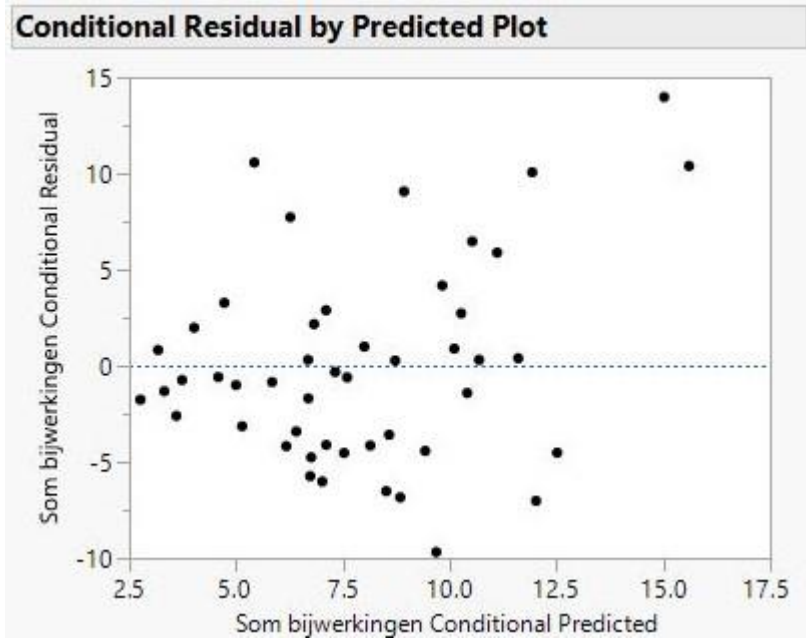
Figuur 4. Homoscedasticiteit RT.

Voor skill zijn de gegevens niet normaal verdeeld ($p < 0.0001$). Alsook is er geen sprake van homoscedasticiteit, zoals weergegeven in figuur 5.



Figuur 5. Homoscedasticiteit skill.

De gegevens van de bijwerkingen van tDCS zijn niet normaal verdeeld ($p=0.0350$). Er is ook geen sprake van homoscedasticiteit, zoals weergegeven in figuur 6.



Figuur 6. Homoscedasticiteit bijwerkingen tDCS.

4.3 Effect van tDCS op RT en skill

Tabel 2 toont de output van een mixed model. Zowel voor RT als skill is er geen effect van stimulatieconditie ($p > 0.05$), alsook geen interactie-effect van blok x stimulatieconditie ($p > 0.05$). Wel is er bij beide een significant effect van blok ($p < 0.05$).

Tabel 2

Mixed model

Uitkomstmaat	Hoofd- en interactie-effecten van ANOVA	VG	F ratio	p
RT	Blok	4	39.413389	<0.0001*
	Stimulatieconditie	3	0.2581264	0.8555
	Blok x Stimulatieconditie	12	0.1356606	0.9998
Skill	Blok	4	14.658907	<0.0001*
	Stimulatieconditie	3	0.0110141	0.9984
	Blok x Stimulatieconditie	12	0.2478392	0.9954

* toont significant verschil op niveau 0.05; RT = reactietijd, VG = vrijheidsgraden

Tabel 3 toont de Tukey paarsgewijze verschillen tussen de blokken. Zowel voor RT als skill is er geen significant verschil tussen blok 1 en blok 6 en tussen blok 9 en blok 6 ($p > 0.05$). Terwijl er wel een significant verschil is tussen blok 5 en blok 6 en tussen blok 11 en blok 6 voor zowel RT als skill ($p < 0.05$).

Tabel 3

Tukey paarsgewijze verschillen

Uitkomstmaat	Blok	- Blok	Gemiddelde verschil	95% BI	p
RT	1	6	-4.446	-37.826; 28.934	0.9961
	9	6	-24.022	-57.403; 9.358	0.2796
	5	6	-90.925	-124.305; -57.545	<0.0001*
	11	6	-118.807	-152.212; -85.402	<0.0001*
Skill	1	6	0.000881	-0.077303; 0.079065	1.0000
	9	6	0.013117	-0.065067; 0.091301	0.9906
	5	6	0.126082	0.047898; 0.204266	0.0001*
	11	6	0.160361	0.082118; 0.238603	<0.0001*

*toont significant verschil op niveau 0.05; RT = reactietijd, BI = betrouwbaarheidsinterval

4.4 Bijwerkingen tDCS

De bijwerkingen, rekening houdend met de gerapporteerde intensiteit, van de verschillende stimulatiecondities van tDCS zijn weergegeven in tabel 4. Hierbij staat elk getal voor de som van de gerapporteerde intensiteiten. Dit zijn gegevens van de participanten in Duitsland, bij

de participant in België is dit niet bevestigd. Jeuk, tintelingen en branderig gevoel zijn de drie meest voorkomende bijwerkingen. Slaapproblemen, nervositeit en hoofdpijn komen het minst voor. Er zijn geen statistische verschillen gevonden tussen de stimulatiecondities op vlak van bijwerkingen ($p=0.2386$).

Tabel 4

Bijwerkingen tDCS

Stimulatieconditie	Totaal	Visuele sensatie	Jeuk	Tintelingen	Branderig gevoel	Pijn	Roodheid huid
Sham	76	7	9	10	10	2	5
1 mA	71	10	7	8	10	5	6
2 mA	112	10	22	18	22	5	6
3 mA	119	12	17	19	26	11	13

Tabel 4

Vervolg

Stimulatieconditie	Hoofdpijn	Vermoeidheid	Concentratieproblemen	Nervositeit	Slaapproblemen	Andere
Sham	8	9	12	4	0	/
1 mA	3	12	9	1	0	Stekend
2 mA	5	10	11	3	0	Druk
3 mA	6	7	7	1	0	Druk

4.5 Controle impliciet leren

Tien participanten hebben een sequentie opgemerkt, vier daarvan kunnen deze herhalen.

5 Discussie

In meerdere studies is reeds aangetoond dat anodale tDCS over M1 een invloed kan hebben op motorisch sequentieel leren. Nochtans bestaan er ook verschillende studies die het tegendeel aantonen. De reden dat er nog geen valide conclusie over de effecten van tDCS op motorisch sequentieel leren gevonden is, kan worden toegeschreven aan de hoge methodologische variabiliteit (Hashemirad, Zoghi, Fitzgerald, & Jaberzadeh, 2016; Buch et al., 2017). De studies die tot op heden uitgevoerd zijn, verschillen vaak in protocol, in uitvoering van de SRTT en maken gebruik van verschillende parameters van tDCS. Dit omdat de optimale parameters van tDCS bij gezonde jongeren nog niet gekend zijn. Deze studie tracht voor één van deze parameters, namelijk de intensiteit van tDCS, de optimale instelling te vinden. Hierdoor zou in de toekomst meer uniformiteit in de onderzoeken rond de invloed van anodale tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren mogelijk kunnen zijn.

De resultaten van de primaire uitkomstmaat RT tonen dat er geen effect is van de intensiteit van tDCS op motorisch sequentieel leren. Voor zover we weten is er geen eerdere studie die het effect van verschillende intensiteiten van tDCS onderzoekt. Bovendien wordt er ook geen verschil gezien in RT tussen sham en de andere intensiteiten voor zowel motorisch leren als sequentie-specifiek leren. Dit resultaat is in tegenspraak met eerdere studies die aantonen dat er een positief effect is van anodale tDCS over M1 op sequentieel leren (Debarnot et al., 2019; Kantak et al., 2012; Nitsche et al., 2003). Debarnot et al. zag pas op dag 3 een positieve invloed. Dit is mogelijks te wijten aan het feit dat de participanten drie opeenvolgende dagen tDCS toegediend krijgen terwijl ze de SRTT uitvoeren. Deze SRTT wordt uitgevoerd met de niet-dominante hand, terwijl deze in de huidige studie met de dominante hand uitgevoerd wordt. Hierdoor wordt er in onze studie mogelijks sneller een plafond bereikt. Door de SRTT uit te voeren met de niet-dominante hand kan er eventueel sneller een effect op motorisch leren waargenomen worden. Debarnot et al. stimuleert overigens wel op de overeenkomstige rechter M1. Volgens Kantak et al. heeft anodale tDCS over M1 een positieve invloed op sequentieel leren na 24u retentie. Zij gebruiken een target elektrode van 8 cm² en een referentie elektrode van 48 cm², wat een relatief groot verschil is met twee elektrodes van 35 cm² zoals in de huidige studie. Daarbij gebruiken ze een 10 seconden ramp-up bij de sham groep waarna ze de stimulatie plots, zonder ramp-down, stoppen. Dit kan een invloed hebben op het placebo-effect. Alsook, worden er tijdens de stimulatie enkel sequentiële blokken

aangeboden. Net als bij Debarnot et al. wordt de SRTT met de niet-dominante hand uitgevoerd en wordt er gestimuleerd over de rechter M1. Nitsche et al. toont een effect van anodale tDCS over M1 op sequentie-specifiek leren. Deze includeert zowel links- als rechtshandige participanten, al wordt de taak telkens met de rechterhand uitgevoerd terwijl de linker M1 wordt gestimuleerd. De drie bovenstaande studies excluseren de participanten indien deze een sequentie opmerken en kunnen herhalen. Er treedt sequentie-specifiek leren op in elke stimulatieconditie terwijl er geen effect is op motorisch leren. Dit is in lijn met de resultaten van eerdere studies (Ambrus et al., 2016; Nitsche et al.; Kang & Pike., 2011). Echter toont Keitel et al. (2018) zowel sequentie-specifiek leren als motorisch leren in alle stimulatiecondities, in dit geval anodale tDCS van 0.25 mA en sham.

Voor de uitkomstmaat skill zijn in deze studie dezelfde resultaten gevonden als voor RT. Zo is er voor skill geen effect van intensiteit van tDCS op motorisch sequentieel leren. Dit komt overeen met de resultaten uit Talimkhani et al. (2019). In de huidige studie treedt er voor skill ook sequentie-specifiek leren op in alle stimulatiecondities, terwijl er geen verandering is in het motorisch leren. Voor zover we weten zijn hierover nog geen eerdere studies uitgevoerd.

De hypothese dat een hogere intensiteit van tDCS zal zorgen voor een grotere positieve invloed op motorisch sequentieel leren tijdens de stimulatie kan verworpen worden. Zoals verwacht in de tweede hypothese, is er na 24u retentie inderdaad geen verschil in motorisch sequentieel leren tussen de stimulatiecondities. We kunnen deze hypothese daardoor niet verwerpen.

Wanneer gekeken wordt naar de bijwerkingen van de verschillende stimulatiecondities, zien we dat er bij 3 mA de meeste bijwerkingen zijn gerapporteerd. Voor verdere onderzoeken waarbij tDCS over M1 toegepast wordt, suggereren we momenteel om te stimuleren met 1 mA. Dit omdat bij de stimulatie met 1 mA de minste bijwerkingen vastgesteld worden. Omwille van het feit dat er bij de sham groep meer bijwerkingen gerapporteerd worden dan bij stimulatie met 1 mA, kan geconcludeerd worden dat de participanten het verschil tussen sham en stimulatie met 1 mA niet opmerken. Deze uitspraken moeten met enige voorzichtigheid benaderd worden, gezien de verschillen niet significant zijn.

Verdere studies raden we aan om de sterktes van deze studie te implementeren. Zoals het random toewijzen van de interventie en het model van Savic en Meijer (2016), met elke sessie een andere sequentie van SRTT, toe te passen. De participanten afgezien van de interventie

gelijk te behandelen en zowel participanten, behandelaars als effectbeoordelaars te blinderen voor de interventie. In deze studie was er geen sprake van drop-out.

We erkennen dat er enkele limitaties zijn in de studie. Om te beginnen heeft de studie een kleine sample size ($n=13$). Hierdoor zijn de participanten die een sequentie opmerken en eventueel zelfs kunnen herhalen, niet geëxcludeerd uit de studie. Vandaar kan er sprake zijn van expliciet leren. Dit expliciet leren zou niet beïnvloed worden door stimulatie van M1, aangezien expliciete kennis over de geoefende sequentie geassocieerd is met activiteit in de dorsale premotorische cortex, dorsolaterale prefrontale cortex en de supplementaire motorische cortex (Honda et al., 1998; Robertson; Vidoni & Boyd). Het cross-over design speelt hierin een cruciale rol, omwille van het feit dat de meeste participanten pas bij de laatste sessie een sequentie opmerken. Sommige participanten kunnen om die reden in de laatste sessie beter scoren, ongeacht de intensiteit van stimulatie. Indien een Randomized Controlled Trial (RCT) toegepast zou worden, zouden wellicht minder participanten een sequentie opmerken. Bovendien kan er vanwege het cross-over design vlugger leereffect optreden in vergelijking met een RCT. Leereffect wordt gezien als een verbetering in de taak ongeacht stimulatie. Vervolgens wordt er gebruik gemaakt van elektrodes met een oppervlakte van 35 cm^2 , wat ervoor kan zorgen dat nabijgelegen hersengebieden gestimuleerd worden. Verder is er een mixed model gebruikt terwijl de voorwaarden van normaliteit en homoscedasticiteit niet volledig voldaan zijn. Om die reden dienen de resultaten van deze studie met enige voorzichtigheid geïnterpreteerd te worden. Echter is het wel zo dat mixed model vrij robuust is voor het schenden van de voorwaarden (Schielzeth et al., 2020). Daarnaast varieert de leeftijd van de participanten tussen 22 en 28 jaar, waardoor de resultaten niet veralgemeend mogen worden naar alle jongeren tussen 18 en 50 jaar, zoals vermeld in de inclusiecriteria.

6 Conclusie

In dit onderzoek is er geen invloed gevonden van de intensiteit van anodale tDCS over M1 op motorisch sequentieel leren. Verder onderzoek is noodzakelijk, waarbij de SRTT op een uniforme manier uitgevoerd wordt. Een RCT design met een grotere steekproefgrootte wordt voor deze studie-opzet zeker aanbevolen. Tot verder onderzoek de optimale intensiteit van tDCS over M1 gevonden heeft, raden we aan om met 1 mA te stimuleren.

7 Referentielijst

- Ambrus, G. G., Chaieb, L., Stilling, R., Rothkegel, H., Antal, A., & Paulus, W. (2016). Monitoring transcranial direct current stimulation induced changes in cortical excitability during the serial reaction time task. *Neuroscience Letters*, *616*, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.01.039>
- Antal, A., Nitsche, M. A., Kincses, T. Z., Kruse, W., Hoffmann, K. P., & Paulus, W. (2004). Facilitation of visuo-motor learning by transcranial direct current stimulation of the motor and extrastriate visual areas in humans. *European Journal of Neuroscience*, *19*(10), 2888–2892. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03367.x>
- Buch, E. R., Santarnecchi, E., Antal, A., Born, J., Celnik, P. A., Classen, J., ... Cohen, L. G. (2017). Effects of tDCS on motor learning and memory formation: A consensus and critical position paper. *Clinical Neurophysiology*, *128*(4), 589–603. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.01.004>
- Debarnot, U., Neveu, R., Samaha, Y., Saruco, E., Macintyre, T., & Guillot, A. (2019). Acquisition and consolidation of implicit motor learning with physical and mental practice across multiple days of anodal tDCS. *Neurobiology of Learning and Memory*, *164*, 107062. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107062>
- Fonteneau, C., Mondino, M., Arns, M., Baeken, C., Bikson, M., Brunoni, A. R., ... Brunelin, J. (2019). Sham tDCS: A hidden source of variability? Reflections for further blinded, controlled trials. *Brain Stimulation*, *12*(3), 668–673. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.12.977>
- Hashemirad, F., Zoghi, M., Fitzgerald, P. B., & Jaberzadeh, S. (2016). The effect of anodal transcranial direct current stimulation on motor sequence learning in healthy individuals: A systematic review and meta-analysis. *Brain and Cognition*, *102*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2015.11.005>
- Honda, M., Deiber, M. P., Ibanez, V., Pascual-Leone, A., Zhuang, P. & Hallett, M (1998). Dynamic cortical involvement in implicit and explicit motor sequence learning: A PET study. *Brain*, *121*(11), 2159–2173. <https://doi.org/10.1093/brain/121.11.2159>

- Jongkees, B. J., Immink, M. A., Boer, O. D., Yavari, F., Nitsche, M. A., & Colzato, L. S. (2019). The Effect of Cerebellar tDCS on Sequential Motor Response Selection. *The Cerebellum*, 18(4), 738–749. <https://doi.org/10.1007/s12311-019-01029-1>
- Kang, E. K., & Paik, N. J. (2011). Effect of a tDCS electrode montage on implicit motor sequence learning in healthy subjects. *Experimental & Translational Stroke Medicine*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/2040-7378-3-4>
- Kantak, S. S., Mummidisetty, C. K., & Stinear, J. W. (2012). Primary motor and premotor cortex in implicit sequence learning - evidence for competition between implicit and explicit human motor memory systems. *European Journal of Neuroscience*, 36(5), 2710–2715. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08175.x>
- Karni, A., Meyer, G., Jezzard, P., Adams, M. M., Turner, R., & Ungerleider, L. G. (1995). Functional MRI evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning. *Nature*, 377(6545), 155–158. <https://doi.org/10.1038/377155a0>
- Keitel, A., Øfsteng, H., Krause, V., & Pollok, B. (2018). Anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) over the right primary motor cortex (M1) impairs implicit motor sequence learning of the ipsilateral hand. *Frontiers in Human Neuroscience*, 12, 1-7. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00289>
- Lu, X., & Ashe, J. (2005). Anticipatory activity in primary motor cortex codes memorized movement sequences. *Neuron*, 45(6), 967–973. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.036>
- Luft, A. R., & Buitrago, M. M. (2005). Stages of motor skill learning. *Molecular Neurobiology*, 32(3), 205–216. <https://doi.org/10.1385/mn:32:3:205>
- Meier, B., & Cock, J. (2014). Offline consolidation in implicit sequence learning. *Cortex*, 57, 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2014.03.009>
- Muellbacher, W., Ziemann, U., Wissel, J., Dang, N., Kofler, M., Facchini, S., ... Hallett, M. (2002). Early consolidation in human primary motor cortex. *Nature*, 415(6872), 640–644. <https://doi.org/10.1038/nature712>
- Nieuwboer, A., Rochester, L., Müncks, L., & Swinnen, S. P. (2009). Motor learning in Parkinson's disease: Limitations and potential for rehabilitation. *Parkinsonism & Related Disorders*, 15, S53–S58. [https://doi.org/10.1016/s1353-8020\(09\)70781-3](https://doi.org/10.1016/s1353-8020(09)70781-3)

- Nissen, M. J., & Bullemer, P. (1987). Attentional requirements of learning: Evidence from performance measures. *Cognitive Psychology*, 19(1), 1–32. [https://doi.org/10.1016/0010-0285\(87\)90002-8](https://doi.org/10.1016/0010-0285(87)90002-8)
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, 527(3), 633–639. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x>
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2001). Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*, 57(10), 1899–1901. <https://doi.org/10.1212/wnl.57.10.1899>
- Nitsche, M. A., Schauenburg, A., Lang, N., Liebetanz, D., Exner, C., Paulus, W., & Tergau, F. (2003). Facilitation of implicit motor learning by weak transcranial direct current stimulation of the primary motor cortex in the human. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 15(4), 619–626. <https://doi.org/10.1162/089892903321662994>
- Pascual-Leone, A., Grafman, J., & Hallett, M. (1994). Modulation of cortical motor output maps during development of implicit and explicit knowledge. *Science*, 263(5151), 1287–1289. <https://doi.org/10.1126/science.8122113>
- Robertson, E. M. (2009). From creation to consolidation: A novel framework for memory processing. *PLoS Biology*, 7(1), e1000019. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000019>
- Rosa, M. A., & Lisanby, S. H. (2011). Somatic treatments for mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 102–116. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.225>
- Rosenthal, C. R., Roche-Kelly, E. E., Husain, M., & Kennard, C. (2009). Response-dependent contributions of human primary motor cortex and angular gyrus to manual and perceptual sequence learning. *Journal of Neuroscience*, 29(48), 15115–15125. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2603-09.2009>
- Savic, B., & Meier, B. (2016). How transcranial direct current stimulation can modulate implicit motor sequence learning and consolidation: A brief review. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00026>
- Schielzeth, H., Dingemanse, N. J., Nakagawa, S., Westneat, D. F., Allogue, H., Teplitsky, C., ... Araya-Ajoy, Y. G. (2020). Robustness of linear mixed-effects models to violations of

- distributional assumptions. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(9), 1141–1152.
<https://doi.org/10.1111/2041-210x.13434>
- Schmidt, R. A., & Wrisberg, C. A. (2008). Motor learning and performance: A situation-based learning approach (4th ed.). *Human Kinetics*.
- Song, S., Howard, J. H., & Howard, D. V. (2007). Implicit probabilistic sequence learning is independent of explicit awareness. *Learning & Memory*, 14(3), 167–176.
<https://doi.org/10.1101/lm.437407>
- Squire, L. (1986). Mechanisms of memory. *Science*, 232(4758), 1612–1619.
<https://doi.org/10.1126/science.3086978>
- Talimkhani, A., Abdollahi, I., Mohseni-Bandpei, M. A., Ehsani, F., Khalili, S., & Jaberzadeh, S. (2019). Differential effects of unihemispheric concurrent dual-site and conventional primary motor cortex transcranial direct current stimulation on motor sequence learning in healthy individuals: A randomized sham-controlled study. *Basic and Clinical Neuroscience Journal*, 10(1), 59–71. <https://doi.org/10.32598/bcn.9.10.350>
- Talimkhani, A., Abdollahi, I., Zoghi, M., Talebi Ghane, E., & Jaberzadeh, S. (2018). The effects of unihemispheric concurrent dual-site transcranial direct current stimulation on motor sequence learning in healthy individuals: A randomized, clinical trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 20(7), 1–7. <https://doi.org/10.5812/ircmj.64147>
- Ungerleider, L. G., Doyon, J., & Karni, A. (2002). Imaging brain plasticity during motor skill learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78(3), 553–564.
<https://doi.org/10.1006/nlme.2002.4091>
- Vidoni, E. D., & Boyd, L. A. (2007). Achieving enlightenment: what do we know about the implicit learning system and its interaction with explicit knowledge? *Journal of Neurologic Physical Therapy*, 31(3), 145–154.
<https://doi.org/10.1097/npt.0b013e31814b148e>
- Walker, M. P., Brakefield, T., Allan Hobson, J., & Stickgold, R. (2003). Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. *Nature*, 425(6958), 616–620.
<https://doi.org/10.1038/nature01930>
- Wilkinson, L., Teo, J. T., Obeso, I., Rothwell, J. C., & Jahanshahi, M. (2010). The contribution of primary motor cortex is essential for probabilistic implicit sequence learning: Evidence

from theta burst magnetic stimulation. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22(3), 427–436. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21208>

8 Bijlagen

Bijlage 1

TES Screening questionnaire

	JA	NEEN
Heeft u metalen (uitgezonderd titanium) of elektronische implantaten in de hersenen/schedel (bv. splinters, fragmenten, clips, cochleair implantaat, diepe hersenstimulatie, etc.)? Indien ja, specificeer het type metaal en de locatie:		
Heeft u metalen of elektronische implantaten in een ander deel van uw lichaam (pacemaker, metalen fragmenten, etc.)? Indien ja, specificeer het apparaat en de locatie:		
Heeft u ooit chirurgische ingrepen gehad aan het hoofd of aan de ruggengraat? Indien ja, specificeer de locatie:		
Heeft u ooit een hoofdtrauma gehad waarna je het bewustzijn bent verloren?		
Heeft u huidproblemen zoals dermatitis, psoriasis, of eczeem? Indien ja, specificeer de locatie:		
Heeft u epilepsie of heeft u al stuip trekkingen of een epileptisch insult gehad?		
Heeft u last van appelflauwtes of syncopes?		
Bent u zwanger of bestaat de kans dat u zwanger bent?		
Neemt u medicatie? Indien ja, specificeer:		
Bent u allergisch? Indien ja, specificeer:		
Heeft u in het verleden al eens transcraniële magnetische of elektrische neurostimulatie gehad? Indien ja, had u toen ergens last van? Specificeer:		

Een bevestigend antwoord op bovenstaande vragen is geen absolute contra-indicatie voor transcraniële neurostimulatie maar een herevaluatie van de risico's kan nodig zijn. Bij twijfel wordt er contact opgenomen met de arts-onderzoeker.

Code kandidaat (in te vullen door de onderzoeker):

Handtekening en datum:

Bijlage 2

Subject Code:

Date:

Subject Code:

Date:

Post-Stimulation Fragebogen

Mit welcher Intensität wurde stimuliert?	0, 1, 2, 3					
Während der tDCS habe ich bemerkt: (0: trifft nicht zu; 5: trifft voll zu)						
• Visuelles Phänomen (Beginn/Ende)	0	1	2	3	4	5
• Juckreiz	0	1	2	3	4	5
• Kribbeln	0	1	2	3	4	5
• Brenngefühl	0	1	2	3	4	5
• Schmerzen	0	1	2	3	4	5
• Sonstiges:						
_____	0	1	2	3	4	5
_____	0	1	2	3	4	5
_____	0	1	2	3	4	5

Nach der tDCS habe ich bemerkt:

• Hautrötung	0	1	2	3	4	5
• Kopfschmerzen	0	1	2	3	4	5
• Ermüdung	0	1	2	3	4	5
• Konzentrationschwierigkeit	0	1	2	3	4	5
• Nervosität	0	1	2	3	4	5
• Schlafstörung	0	1	2	3	4	5
• Sonstiges:						
_____	0	1	2	3	4	5
_____	0	1	2	3	4	5
_____	0	1	2	3	4	5