

Aus dem Institut für Klinische Neurowissenschaften und Medizinische Psychologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Professor Dr. med. A. Schnitzler

Einfluss der transkraniellen Gleichstromstimulation über dem prämotorischen
Kortex auf das motorische Lernen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Jan Karl Focke
2019

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. Bettina Pollok

Zweitgutachter: Prof. Dr. Tilmann Supprian

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Focke, J., Kemmet, S., Krause, V., Keitel, A., Pollok, B. (2017): *Cathodal transcranial direct current stimulation (tDCS) applied to the left premotor cortex (PMC) stabilizes a newly learned motor sequence*. Behav Brain Res, 316: 87-93.

Zusammenfassung (deutsch)

Motorisches Lernen lässt sich in eine Akquisitions- und Konsolidierungsphase gliedern und basiert auf dem Zusammenspiel verschiedener kortikaler und subkortikaler Areale. Während der primäre motorische Kortex (M1) für die Akquisition und frühe Konsolidierung von Bedeutung ist, wurde die Beteiligung des prämotorischen Kortex (PMC) am motorischen Lernen vor allem für die spätere, möglicherweise schlafabhängige Konsolidierung beschrieben. Ein möglicher Beitrag zur frühen schlafunabhängigen Konsolidierung wurde bislang nicht untersucht. Die vorliegende Arbeit untersucht die funktionelle Bedeutung des linken PMC für die implizite Akquisition und die frühe schlafunabhängige Konsolidierung einer motorischen Sequenz. Zu diesem Zweck erhielten 18 gesunde rechtshändige Probanden/innen an separaten Messterminen, eine jeweils 10-minütige transkranielle Gleichstromstimulation (engl.: *transcranial direct current stimulation*, tDCS) über dem linken PMC. Die anodale tDCS diente der Erhöhung, die kathodale der Reduzierung der Exzitabilität des PMC. Eine Schein-Stimulation diente als Kontrollbedingung. Unmittelbar im Anschluss an die Stimulation trainierten die Probanden/innen eine serielle Reaktionszeitaufgabe mit der rechten Hand. Während die sequentielle Darbietung motorisches Lernen induzieren sollte, diente eine randomisierte Darbietung als Kontrollbedingung. Die Reaktionszeiten wurden für beide Bedingungen (sequentiell vs. randomisiert) vor dem Üben (t1), zum Ende der Akquisition (t2) und nach einer interferierenden Bedingung unmittelbar im Anschluss an die Akquisition (t3) bestimmt. Eine verminderte Interferenzneigung zum Zeitpunkt t3 wurde als Maß für eine erfolgreiche Konsolidierung interpretiert. Die Auswertung zeigte eine unspezifische Reaktionszeitbeschleunigung zum Zeitpunkt t2 sowohl nach der anodalen als auch nach der kathodalen tDCS. Dieser Effekt könnte die grundlegende Bedeutung des PMC für die Bewegungsplanung widerspiegeln. Zum Zeitpunkt t3 zeigte sich eine verringerte Interferenzneigung nur nach kathodaler Stimulation. Dieses Ergebnis weist auf die Relevanz des PMC für die frühe, schlafunabhängige Konsolidierung einer motorischen Sequenz hin. Die Förderung der frühen Konsolidierung durch die Reduktion der Exzitabilität des PMC legt die Annahme konkurrierender Prozesse zwischen dem M1 und dem PMC während dieser Phase nahe.

Zusammenfassung (englisch)

Motor learning depends on the functional interaction between various cortical and subcortical brain areas and can be structured by its time-course into acquisition – during the training of a motor skill – and consolidation – after the active training. While the primary motor cortex (M1) appears to be crucial for the acquisition and early consolidation of a motor pattern, the premotor cortex (PMC) has been particularly linked to sleep-dependent consolidation. A possible contribution for sleep-independent consolidation has not been investigated yet. The present thesis aims at elucidating the relevance of the left PMC for acquisition and day-time consolidation of an implicitly learned motor sequence. To this end, eighteen healthy right-handed volunteers received anodal, cathodal and sham transcranial direct current stimulation (tDCS) of the left PMC in three separate sessions for 10 minutes, respectively. While anodal tDCS is thought to enhance cortical excitability, cathodal tDCS has been linked to its reduction. Sham stimulation served as control condition. Subsequently to tDCS the participants were trained on a serial reaction time task (SRTT) with the right hand. A sequential pattern of stimuli was presented to induce motor learning, while a random pattern served as a control condition. Reaction times were measured for both conditions (sequential vs. random) separately prior to training (t1), at the end of training (t2) and after the presentation of an interfering random pattern (t3). Reduced susceptibility to interference at t3 was interpreted as indicator for successful consolidation. Results yield an unspecific facilitation of reaction times at t2 independent of tDCS polarity. This effect likely reflects the relevance of the PMC for movement selection and preparation in general. At t3 cathodal tDCS yielded reduced susceptibility to interference. The results suggest the PMC to be involved in the early sleep-independent consolidation of a motor sequence. Enhanced consolidation effects following inhibitory cathodal tDCS might point to a competition between M1 and PMC during early consolidation that can be modulated by tDCS.

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Analysis of Variance, Varianzanalyse
BG	Basalganglien
CB	Cerebellum
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratzenimeter
DLPFC	dorsolateraler präfrontaler Kortex
dPMC	dorsaler prämotorischer Kortex
EEG	Elektroenzephalographie
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
kOhm	Kilo-Ohm
LTD	long-term depression, Langzeitdepression
LTP	long-term potentiation, Langzeitpotenzierung
m	Meter
M1	primärer motorischer Kortex
mA	Milliampere
mA/cm ²	Milliampere pro Quadratzenimeter
MEP	motorisch evoziertes Potential
ms	Millisekunden
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFC	präfrontaler Kortex
PMC	prämotorischer Kortex
PPC	posteriorer parietaler Kortex
Pre-SMA	prä-supplementäres motorisches Areal
REM	rapid eye movement
RMP	Ruhemembranpotential
rTMS	repetitive transkranielle Magnetstimulation
SMA	supplementäres motorisches Areal
SRTT	serial reaction time task, Serielle Reaktionszeitaufgabe
tDCS	transcranial direct current stimulation, Gleichstromstimulation
TMS	transkranielle Magnetstimulation
vPMC	ventraler prämotorischer Kortex

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Motorisches Lernen – Phasen und Formen	1
1.2 Neuronale Korrelate des motorischen Lernens.....	4
1.3 Untersuchung des motorischen Lernens	6
1.4 Transkranielle Gleichstromstimulation	7
1.5 Relevanz des PMC für motorisches Lernen.....	9
1.6 Ethikvotum	11
1.7 Ziele der Arbeit.....	12
2. „Cathodal transcranial direct current stimulation (tDCS) applied to the left premotor cortex (PMC) stabilizes a newly learned motor sequence”. Focke, J., Kemmet, S., Krause, V., Keitel, A., Pollok, B., Behav Brain Res, 316: 87-93, (2017)	13
3. Diskussion	14
3.1 Bedeutung des PMC für die Sequenzakquisition.....	14
3.2 Reduzierte Interferenzneigung nach kathodaler tDCS.....	17
3.3 Limitationen.....	23
3.4 Ausblick.....	25
3.5 Schlussfolgerung.....	27
4. Literaturverzeichnis.....	28

1. Einleitung

Der Erwerb neuer motorischer Fertigkeiten ist von entscheidender Bedeutung für die erfolgreiche Interaktion mit unserer Umwelt. Trotz der Mühelosigkeit, mit der wir neue Bewegungsmuster erlernen können, verbirgt sich hinter dem Prozess des motorischen Lernens ein komplexes Zusammenspiel unterschiedlicher kortikaler und subkortikaler Areale, an dessen Ende ein präziser und automatisierter Bewegungsablauf steht (Grafton et al., 1995, Doyon et al., 2009).

Motorisches Lernen gliedert sich zeitlich in mindestens zwei Phasen: die Akquisitionsphase, die dem Erwerb eines neuen Bewegungsmusters dient, und die Konsolidierungsphase, die durch eine Stabilisierung und Optimierung des Bewegungsablaufs gekennzeichnet ist (Luft and Buitrago, 2005, Robertson et al., 2004a, Reis et al., 2008). Vorausgehende Studien liefern Hinweise auf die am motorischen Lernen beteiligten Gehirnareale. So wird in bildgebenden Untersuchungen übereinstimmend ein Netzwerk aus kortikalen Regionen, sowie den Basalganglien (BG) und dem Cerebellum (CB) beschrieben (Grafton et al., 1995, Doyon et al., 2009, Seidler et al., 2005, Hardwick et al., 2013). Auf kortikaler Ebene sind insbesondere der primäre motorische Kortex (M1), der prämotorische Kortex (PMC), das prä-supplementäre und supplementäre motorische Areal (pre-SMA, SMA), der posteriore parietale Kortex (PPC) und der präfrontale Kortex (PFC) beteiligt (Grafton et al., 1995, Hardwick et al., 2013). Das Ausmaß der Aktivität dieser Areale scheint dabei unter anderem von der jeweiligen Lernphase (Akquisition vs. Konsolidierung) abzuhängen (Honda et al., 1998). Auch wenn übereinstimmende Evidenz für die Beteiligung dieser Areale am motorischen Lernen existiert, ist ihre genau funktionelle Bedeutung hinsichtlich der Akquisition und der Konsolidierung eines neuen Bewegungsmusters nicht hinreichend verstanden.

1.1 Motorisches Lernen – Phasen und Formen

Unter motorischem Lernen versteht man die Verbesserung der räumlichen und zeitlichen Abfolge von Bewegungen (Willingham, 1998). Diese Verbesserung tritt insbesondere durch die Wiederholung der Bewegung ein. Es muss zwischen dem motorischen Lernen und der motorischen Adaptation unterschieden werden. Beim

motorischen Lernen handelt es sich um das Erlernen einer neuen Bewegung oder einer neuen Bewegungsabfolge. Demgegenüber ist die motorische Adaptation eine Anpassung bereits vorhandener motorischen Fertigkeiten, die durch Umgebungsveränderungen nötig werden (Doyon et al., 2009). Beispielhaft sei hier das Gehen auf einer Eisfläche oder einem sandigen Untergrund genannt. Die motorische Fertigkeit des Gehens muss an die geänderten Bedingungen angepasst werden, ohne dass ein Neu-Lernen erforderlich ist. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde motorisches Lernen am Beispiel des Sequenzlernens untersucht.

Gedächtnisinhalte und damit assoziierte Lernprozesse können in deklarative und prozedurale Inhalte unterteilt werden. Das deklarative Gedächtnis umfasst Faktenwissen, wohingegen das prozedurale Gedächtnis Fertigkeiten beinhaltet (Vidoni and Boyd, 2007). Motorisches Lernen ist ein Beispiel für prozedurales Lernen. Dieses kann sowohl bewusst als auch unbewusst erfolgen. Aus diesem Grund hat sich, die Einteilung in explizites und implizites Lernen etabliert. Explizites Lernen geschieht bewusst während implizites Lernen unbewusst erfolgt (Song, 2009). So kommt es beispielsweise beim impliziten Lernen einer Bewegungssequenz zu einer Abnahme von Reaktionszeiten während der Ausführung der Sequenz als Ausdruck des Lernens, ohne dass die teilnehmende Person Kenntnis von der Sequenz hat. Beim expliziten Lernen kommt es ebenfalls zu einer Beschleunigung von Reaktionszeiten, hier nutzt die Person jedoch die explizite Kenntnis der Sequenz zur Bewegungsausführung. Hinsichtlich der Beziehung der beiden Lernarten besteht Unklarheit. Poldrack und Packard (2003) vermuten, dass explizite und implizite Lernprozesse zueinander in Konkurrenz um neuronale Ressourcen stehen. Andere Daten legen nahe, dass explizite und implizite Lernprozesse unabhängig voneinander parallel ablaufen (Song et al., 2009) und explizites Wissen nicht zwangsläufig implizites Lernen beeinträchtigt (Vidoni and Boyd, 2007).

Die erste Phase des motorischen Lernens, die Akquisitionsphase, findet während des Übens eines neuen Bewegungsmusters statt und geht mit schnellen Verbesserungen des Bewegungsablaufs einher – in der Literatur spricht man

daher auch von der Phase des schnellen Lernens (Karni et al., 1998). Daran schließt sich die Phase der Konsolidierung an, die in Form von zwei unterschiedlichen Phänomenen beobachtet werden kann: Zum einen finden auch ohne weitere Übung Verbesserungen der Bewegungsausführung statt – ein Phänomen, das als *offline improvement* bezeichnet wird (Robertson et al., 2004a). Zum anderen kommt es zur Stabilisierung des erlernten Bewegungsmusters, die sich in einer verringerten Interferenzanfälligkeit zum Beispiel gegenüber einer anderen Sequenz zeigt (Robertson et al., 2004a). Die Konsolidierung beginnt nach Beendigung der Übung und kann über Stunden und Tage andauern (Brashers-Krug et al., 1996), wobei deutliche Konsolidierungseffekte nach 6 – 8 Stunden beobachtet werden konnten (Karni and Sagi, 1993). Die Stabilisierung des motorischen Programms in der Phase nach und zwischen den Übungseinheiten wird als Indiz dafür interpretiert, dass die neuronale Verarbeitung über das Training hinausgehend anhält (Robertson et al., 2004a, Karni et al., 1998). Die Konsolidierung scheint teilweise schlafabhängig zu sein. Probanden/innen, die eine sequentielle Finger-Tapping-Aufgabe trainiert hatten, zeigten nach 12 Stunden im Wachzustand keine signifikante Veränderung der Reaktionszeiten, wohingegen nach einer Schlafphase am nächsten Morgen eine signifikante Verbesserung beobachtet werden konnte (Walker et al., 2002). Dieser schlafabhängige Effekt ist vor allem für das Phänomen des *offline improvements* zu beobachten, während die motorische Stabilisierung auch ohne Schlaf eintritt (Robertson et al., 2004a). Ob und in welchem Ausmaß die Konsolidierung von Schlaf profitiert, scheint unter anderem davon abzuhängen, ob implizit oder explizit gelernt worden ist (Robertson et al., 2004b, Diekelmann and Born, 2010). Die Konsolidierung explizit erlernter Fertigkeiten scheint in einem größeren Maß von Schlaf zu profitieren als die von implizit erlernten (Robertson et al., 2004b, Reis et al., 2008, Diekelmann and Born, 2010). *Rapid eye movement-* (REM) Schlaf scheint dabei eher die Konsolidierung impliziter und Non-REM-Schlaf die Konsolidierung expliziter Erinnerungen zu fördern (Diekelmann and Born, 2010). Ein weiterer Unterschied zwischen der Konsolidierung expliziter und impliziter Inhalte scheint in ihrer Interferenzanfälligkeit zu liegen. So gibt es Hinweise darauf, dass die Konsolidierung expliziter Inhalte anfälliger gegenüber anterograder

Interferenz ist, wohingegen implizite Konsolidierung anfälliger gegenüber retrograder Interferenz zu sein scheint (Ghilardi et al., 2009).

1.2 Neuronale Korrelate des motorischen Lernens

Bildgebenden Studien legen nahe, dass explizites und implizites motorisches Lernen auf unterschiedlichen neuronalen Systemen basieren. So wurde beobachtet, dass während des impliziten motorisches Lernens der M1 und das pre-SMA verstärkt aktiv sind (Grafton et al., 1995, Hazeltine et al., 1997), wohingegen explizites motorisches Lernen mit einer gesteigerten Aktivität präfrontaler und parietaler Areale, sowie des PMC einhergeht (Honda et al., 1998, Hazeltine et al., 1997, Grafton et al., 1995).

Darüber hinaus scheint auch das jeweilige Lernstadium (Akquisition vs. Konsolidierung) mit der Beteiligung unterschiedlicher kortikaler und subkortikaler Regionen einherzugehen. M1 hat eine Schlüsselrolle sowohl für die Akquisition als auch die frühe Konsolidierung insbesondere von motorischen Sequenzen (Karni et al., 1995, Nitsche et al., 2003, Muellbacher et al., 2002, Wilkinson et al., 2010). Das Cerebellum erhält sensorische und motorische Afferenzen. Daher wird angenommen, dass es an der Korrektur eines Bewegungsentwurfs durch die Verarbeitung von Fehlern beteiligt ist (Penhune and Steele, 2012). Penhune und Doyon vermuten, dass diese Funktion ursächlich für die von ihnen beobachtete, gesteigerte Aktivität des Cerebellums während der Akquisition ist (Penhune and Doyon, 2005, Penhune and Doyon, 2002). Auch das pre-SMA und der dorsolaterale präfrontale Kortex (DLPFC) scheinen vor allem während der Akquisition von Bedeutung zu sein (Hikosaka et al., 1996, Tanji, 1996, Sakai et al., 1998). Innerhalb von 6 Stunden nach dem initialen Erwerb eines Bewegungsmusters lässt sich ein Wechsel der Aktivitätsmaxima von präfrontalen Arealen zum PPC und PMC beobachten, der zeitlich zusammenfällt mit einer verminderten Interferenzanfälligkeit der erlernten Bewegung (Shadmehr and Holcomb, 1997). Diese Daten lassen vermuten, dass der PPC und der PMC in die Konsolidierung eines Bewegungsmusters involviert sind. Coynel et al. (2010) ließen zwölf Probanden/innen über vier Wochen täglich eine explizite motorische Sequenz üben und untersuchten die funktionelle Interaktion innerhalb und zwischen prämotorischen und sensomotorischen Arealen mithilfe der funktionellen

Magnetresonanztomographie (fMRT). Mit zunehmender Übung der Sequenz zeigte sich eine Abnahme der funktionellen Interaktion innerhalb des prämotorischen Areals begleitet von einer Zunahme der funktionellen Interaktion zwischen prämotorischen und sensomotorischen Arealen. Die Interaktion innerhalb des sensomotorischen Kortex blieb im zeitlichen Verlauf stabil (Coynel et al., 2010). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Informationen über eine neu erlernte motorische Sequenz zuerst in prämotorischen Arealen verarbeitet werden könnten, während der spätere Verlauf des Lernprozesses durch eine stärkere funktionelle Interaktion mit sensomotorischen Arealen gekennzeichnet ist. Die BG sind in verschiedene Phasen des motorischen Lernens involviert, wobei vermutet wird, dass das anteriore mediale Striatum in Interaktion mit dem PMC und dem PFC zu einem frühen Zeitpunkt relevant ist, wohingegen im späteren Verlauf dorsale Anteile verbunden mit sensomotorischen und parietalen Kortex-Arealen stärker beteiligt sein könnten (Penhune and Steele, 2012, Lehericy et al., 2005). Für den Abruf einer erlernten motorischen Sequenz wird ein kortikales Netzwerk aus M1, PMC und PPC (Penhune and Doyon, 2002), sowie dem SMA (Hikosaka et al., 1996) als relevant in Betracht gezogen.

Die geschilderten Beobachtungen geben Grund zu der Annahme, dass die unterschiedlichen Phasen des motorischen Lernens mit der Beteiligung unterschiedlicher Gehirnareale assoziiert sind. In der Vergangenheit gab es verschiedene Ansätze, den Beitrag der am motorischen Lernen beteiligten Areale in ein Gesamtkonzept zu integrieren. Den Schwerpunkt der Betrachtung bildet hierbei das Erlernen motorischer Sequenzen. Doyon et al. (2009) orientierten sich in ihrem Modell an der Vorstellung eines zeitlich gegliederten motorischen Lernprozesses, mit einer Stadien abhängigen Beteiligung bestimmter Areale, wie sie sich von den oben dargestellten Beobachtungen ableiten lässt. Nach diesem Modell sind während der frühen Phase des Erlernens einer motorischen Sequenz das Cerebellum, das Striatum, motor-kortikale, präfrontale, parietale und limbische Areale involviert. Mit zunehmender Übung nimmt die Aktivität des Cerebellums ab, während das Striatum und die motor-kortikalen Areale – insbesondere der PMC, das SMA und das anteriore Cingulum – aktiv bleiben und daher entscheidend für die Konsolidierung einer motorischen Sequenz sein könnten (Doyon et al., 2009).

Anders als Doyon et al. (2009) gehen Hikosaka et al. (2002) nicht von einer zeitlichen Gliederung des motorischen Lernens aus, sondern von einer Gliederung in räumliche und motorische Aspekte der Bewegung. Sie schlagen vor, dass beim Erlernen einer motorischen Sequenz voneinander unabhängig eine räumliche und eine motorische Repräsentation gebildet werden. Die räumliche Repräsentation basiert nach diesem Modell auf kortikaler Ebene auf einem fronto-parietalen Netzwerk. Die motorische Repräsentation basiert im Gegensatz dazu auf der Aktivierung motor-kortikaler Areale. Als vermittelnde Struktur zwischen den beiden Systemen wird die pre-SMA diskutiert. Ein solcher Mediator wäre insbesondere dann bedeutend, wenn räumliche und motorische Informationen interferieren und so einen erfolgreichen Lernprozess behindern könnten (Nakahara et al., 2001, Hikosaka et al., 2002).

1.3 Untersuchung des motorischen Lernens

Die serielle Reaktionszeitaufgabe (engl. *serial reaction time task* (SRTT)) ist ein etabliertes Paradigma zur Untersuchung des motorischen Sequenzlernens (Nissen and Bullemer, 1987). Bei dieser Aufgabe wird ein visueller Stimulus an einer von vier horizontal angeordneten Positionen präsentiert. Jede Position korrespondiert mit einem von vier Tasten einer Antwortbox. Die Probanden/innen werden instruiert, so schnell wie möglich die korrespondierende Taste zu drücken, sobald der Stimulus in Form eines Farbwechsels an einer der vier Positionen, erscheint. Die Präsentation erfolgt sequenziell und wird mehrfach wiederholt. Der auf diese Weise induzierte motorische Lernprozess wird üblicherweise in Form von schnelleren Reaktionszeiten gemessen. Da diese auch durch reine Routine in der Aufgabenausführung auftreten können, dient eine randomisierte Abfolge als Kontrollbedingung. Hierbei ist kein Sequenzlernen zu erwarten, unspezifische Reaktionszeitbeschleunigungen sollten sich allerdings auch in dieser Bedingung zeigen. Die SRTT eignet sich zur Untersuchung sowohl des impliziten als auch des expliziten motorischen Lernens. Um implizites Lernen zu induzieren, werden die Probanden/innen zum einen über die Existenz der Sequenz im Unklaren gelassen. Zum anderen ist die Wiederholungsrate der zu lernenden Sequenz im Vergleich zum expliziten Lernen geringer.

1.4 Transkranielle Gleichstromstimulation

Bildgebende Verfahren, wie die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) oder die fMRT, erlauben die Identifikation unterschiedlicher Areale, die in bestimmte Funktionen, wie zum Beispiel dem motorischen Lernen, involviert sind. Allerdings ermöglichen diese Methoden keine Aussagen über deren kausale Beteiligung und den spezifischen Beitrag eines Areals für die untersuchte Funktion. Nicht-invasive transkranielle Stimulationstechniken haben deshalb in der Hirnforschung große Bedeutung erlangt. Durch die Modulation der Exzitabilität eines Zielareals und die Beobachtung der dadurch verursachten Veränderungen in der Aufgabenausführung können Rückschlüsse auf die funktionelle Bedeutung unterschiedlicher kortikaler Areale getroffen werden.

Die transkranielle Gleichstromstimulation (engl. *transcranial direct current stimulation* (tDCS)) erlaubt die nicht-invasive Modulation der kortikalen Exzitabilität (einen Überblick liefern Stagg and Nitsche, 2011, Filmer et al., 2014, Hashemirad et al., 2016). Im Bereich des M1 können die Effekte der tDCS auf die Exzitabilität mithilfe von motorisch evozierten Potentialen (MEP) untersucht werden. Dabei zeigte sich, dass der Stimulationseffekt von der Polarität der tDCS abhängt (Nitsche and Paulus, 2000). So konnte gezeigt werden, dass die anodale Stimulation über M1 die kortikale Exzitabilität steigert, wohingegen die kathodale tDCS diese verringert (Nitsche and Paulus, 2000, Nitsche and Paulus, 2001). Veränderungen der neuronalen Erregbarkeit, die während der Stimulation auftreten, sind am ehesten auf die Modulation des Ruhemembranpotentials (RMP) zurückzuführen (Nitsche and Paulus, 2000). In Abhängigkeit von der Dauer der tDCS halten die Stimulationseffekte mehrere Stunden an (Nitsche and Paulus, 2001). Diese so genannten *Offline*-Effekte basieren wahrscheinlich auf N-Methyl-D-Aspartat- (NMDA-) Rezeptor-abhängigen *long-term potentiation*- (LTP) und *long-term depression*- (LTD) ähnlichen Prozessen (Stagg and Nitsche, 2011).

Motorisches Lernen geht mit der Stärkung motor-kortikaler synaptischer Verbindungen, beruhend auf LTP- und LTD-ähnlichen Mechanismen, einher (Riout-Pedotti et al., 2000, Ziemann et al., 2004). Da die Effekte der tDCS und motorisches Lernen auf ähnlichen Prozessen beruhen könnten – nämlich der Veränderung der synaptischen Effizienz – liegt die Vermutung nahe, dass tDCS

ein geeignetes Instrument darstellt, motorisches Lernen zu modulieren. Tatsächlich zeigen vorausgehende Studien einen Effekt der tDCS über M1 auf motorisches Lernen (Nitsche et al., 2003, Reis et al., 2008, Reis et al., 2009, Hummel et al., 2010, Filmer et al., 2014, Hashemirad et al., 2016). Solche Effekte konnten sowohl für die Akquisition (Galea and Celnik, 2009, Nitsche et al., 2003) als auch für die frühe Konsolidierung (Nitsche et al., 2003, Tecchio et al., 2010, Kang and Paik, 2011, Rroji et al., 2015) beobachtet werden.

Auch die transkranielle Magnetstimulation (TMS) ist eine nicht-invasive Technik, die zur Modulation der kortikalen Exzitabilität eingesetzt werden kann. Die repetitive TMS (rTMS) erlaubt – vergleichbar zur tDCS – eine Modulation der kortikalen Exzitabilität, die über die Stimulation hinausgehend andauert (Pascual-Leone et al., 1994). Die Richtung des Stimulationseffekts ist im Fall der rTMS frequenz-abhängig. Während es bei der Stimulation mit einer Frequenz von 1 Hz zu einer Abnahme der Exzitabilität kommt (Chen et al., 1997), führt die Stimulation mit Frequenzen ≥ 5 Hz zu deren Zunahme (Pascual-Leone et al., 1994). Der Effekt der TMS hängt nicht allein von Stimulationsparametern wie Frequenz, Dauer und Intensität ab, sondern auch von der Aktivität des Zielareals. Die TMS scheint dabei vor allem einen Effekt auf Neuronenpopulationen zu haben, die eine geringere Aktivität aufweisen (Silvanto et al., 2007b, Silvanto et al., 2007a, Silvanto and Pascual-Leone, 2008). Eine Erklärung für diese Beobachtung könnte sein, dass weniger aktive Neuronen größere Möglichkeiten zur Steigerung ihrer Exzitabilität haben bevor ein Deckeneffekt erreicht wird (Silvanto et al., 2007a). Demnach wäre nicht die absolute, sondern die relative Steigerung der Entladungsrate verantwortlich für die Effekte der TMS (Silvanto et al., 2007a). Es ist vorstellbar, dass auch die Effekte der tDCS abhängig von der Aktivität des Stimulationsareals sind. Somit wären nicht nur Stimulationsdauer, Stromstärke und Polarität für den Effekt der tDCS entscheidend, sondern auch der Stimulationszeitpunkt und die vorherrschende neuronale Aktivität während der Stimulation. Erste Evidenz für diese Annahme liefern Daten von Giacobbe et al. (2013), die in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Stimulation (vor, während und nach dem Training einer Bewegung) unterschiedliche Effekte der tDCS auf das motorische Lernen zeigen. Die Stimulation des M1 vor der Akquisition führte zu

einer gleichmäßigeren Bewegungsausführung, wohingegen die Stimulation nach der Akquisition diese verschlechterte. Die Applikation der tDCS während des Trainings zeigte keinen signifikanten Effekt (Giacobbe et al., 2013).

1.5 Relevanz des PMC für motorisches Lernen

Bildgebende Arbeiten weisen auf eine Aktivitätszunahme des PMC während des motorischen Lernens hin (Grafton et al., 1995, Hazeltine et al., 1997, Honda et al., 1998, Shadmehr and Holcomb, 1997). Diesen Beobachtungen entsprechend, fanden Hardwick et al. (2013) in einer Metaanalyse von 70 bildgebenden Studien zum motorischen Lernen eine konsistente Aktivierung von Teilen des PMC, was die Autoren als Evidenz für eine Beteiligung am motorischen Lernen deuteten. Uneinigkeit besteht hierbei jedoch hinsichtlich seines genauen funktionellen Beitrags. Der PMC ist ein Teil des motorischen Kortex und entspricht zytoarchitektonisch Brodmann Areal 6. Er besteht aus einem ventralen (vPMC) und einem dorsalen (dPMC) Anteil (Kantak et al., 2012b). Der vPMC ist Teil eines fronto-parietalen Netzwerks und Teil des Spiegelneuronen-Systems (Kantak et al., 2012b). Daher ist eine Beteiligung insbesondere am Beobachtungslernen naheliegend (Stefan et al., 2005). Der dPMC erhält visuelle und somatosensorische Informationen aus parietalen Kortex-Arealen und ist entscheidend für die Bewegungsplanung und -auswahl (Kantak et al., 2012b, Schluter et al., 1998). Einzelzelleableitungen an Primaten deuten außerdem auf eine Beteiligung des dPMC beim Erstellen motorischer Programme hin (Ohbayashi et al., 2003). Zu diesem Zweck scheint der dPMC bereits vorhandene Informationen über einzelne Elemente der Bewegungsabfolge zu nutzen (Ohbayashi et al., 2003). Davon ausgehend, dass komplexe Bewegungsabläufe aus einzelnen Bewegungselementen unter Zuhilfenahme visueller und somatosensorischer Informationen zusammengesetzt werden, liegt eine Beteiligung des dPMC am motorischen Lernen nahe. Diese Interpretation wird durch die bereits zitierte Metaanalyse von Hardwick und Mitarbeitern (2013) unterstützt. Die Autoren dieser Arbeit kamen zu dem Schluss, dass der dPMC eine entscheidende Struktur innerhalb des mit dem motorischen Lernen assoziierten Netzwerkes ist. Tatsächlich konnten Shadmehr und Holcomb (1997) in einem Zeitraum von sechs Stunden nach der Akquisition eines

Bewegungsmusters eine Verschiebung der Aktivität vom PFC hin zum PPC und PMC zeigen. Diese Arbeit unterstützt die Annahme, dass der PMC relevant für die Konsolidierung und weniger für die Akquisition eines neuen Bewegungsmusters sein könnte. Diese Annahme wird durch nachfolgende Studien von Nitsche und Mitarbeitern unterstützt (2003, 2010). Sie applizierten die tDCS über dem linken PMC und zeigten ein verstärktes *offline improvement* einer zuvor mit der rechten Hand gelernten Sequenz durch anodale tDCS. Dieser Effekt zeigte sich allerdings nur, wenn die Stimulation während der REM-Phase appliziert wurde und der Wiederabruf unmittelbar im Anschluss getestet wurde (Nitsche et al., 2010). Die Stimulation während der Akquisition führte nicht zu signifikanten Effekten auf das motorische Lernen (Nitsche et al., 2003). Grundsätzlich unterstützen diese Daten die Annahme einer kausalen Rolle des linken PMC für die Konsolidierung einer motorischen Sequenz. Allerdings deuten sie darauf hin, dass der PMC in die schlafabhängige Konsolidierung involviert sein könnte. Nitsches Ergebnisse werden gestützt durch Studien anderer Arbeitsgruppen, die Stimulationseffekte über dem dPMC auf die Konsolidierung eines neu gelernten Bewegungsmusters zeigen konnten (Boyd and Lindsell, 2009, Meehan et al., 2013, Katak et al., 2012a). Diese Ergebnisse weisen ebenfalls auf die Rolle des dPMC bei der schlafabhängigen Konsolidierung eines neu erlernten Bewegungsmusters hin, wohingegen er für die Akquisition eine eher untergeordnete Bedeutung zu haben scheint. Die Studien unterscheiden sich jedoch in ihrer Versuchsanordnung und der Richtung ihrer Ergebnisse. Einen ähnlichen positiven Effekt auf die motorische Konsolidierung wie Nitsche et al. (2010) für die anodale tDCS während des REM-Schlafs beobachteten, beschrieben Boyd und Lindsell (2009) für die exzitabilitäts-erhöhende 5 Hz rTMS des dPMC. In dieser Studie wurde die rTMS vor der Akquisition appliziert und der Effekt auf eine räumliche *Tracking*-Aufgabe untersucht. Meehan et al. (2013) zeigten einen positiven Effekt auf dieselbe Aufgabe, wenn eine inhibitorische, 1 Hz rTMS nach dem Üben der Aufgabe appliziert wurde. Katak et al. (2012a) stimulierten anodal während der Akquisition einer SRTT und beobachteten abgeschwächte Konsolidierungseffekte. Diese unterschiedlichen, teils widersprüchlich erscheinenden Ergebnisse könnten unter anderem durch die variierenden Stimulationszeitpunkte und der damit möglicherweise verbundenen Unterschiede der Aktivität des Zielareals verursacht

sein (Silvanto and Pascual-Leone, 2008). Allen zuvor beschriebenen Arbeiten (Boyd and Lindsell, 2009, Nitsche et al., 2010, Kantak et al., 2012a, Meehan et al., 2013) ist gemein, dass die Effekte der verschiedenen Neurostimulationsverfahren auf die Konsolidierung nach einer Schlafphase untersucht wurden. Die Arbeiten stützen somit die Annahme, dass Schlaf entscheidend zur Konsolidierung einer motorischen Fertigkeit beiträgt (Robertson et al., 2004a, Diekelmann and Born, 2010). Im Fall der Arbeiten von Boyd und Lindsell (2009), Kantak et al. (2012a) und Meehan et al. (2013), bei denen im Wachzustand mit engem zeitlichen Bezug zur Akquisition stimuliert wurde, ist auch ein Stimulationseffekt auf die frühe schlafunabhängige Konsolidierung denkbar. Durch den späten Zeitpunkt des Wiederabrufs lassen diese Arbeiten jedoch keine konkrete Aussage über frühe Konsolidierungsstadien zu. Außerdem wurde in den Arbeiten ausschließlich das *offline improvement* als Indikator für Konsolidierungsprozesse untersucht. In der Arbeit von Nitsche et al. (2010) wurde in einer Kontrollbedingung der Effekt der PMC-tDCS auf die Konsolidierung im Wachzustand untersucht. Es zeigte sich zwar kein signifikanter Effekt der tDCS im Sinne eines *offline improvements* aber die Daten liefern Hinweise auf eine verminderte Interferenzneigung und somit auf eine Stabilisierung der gelernten Sequenz. Die Autoren kamen daher zu dem Schluss, dass auch im Wachzustand Konsolidierung stattfindet, die jedoch eher mit der Stabilisierung der gelernten Sequenz und weniger mit einer weiteren trainingsunabhängigen Verbesserung im Sinne eines *offline improvements* einherzugehen scheint (Nitsche et al., 2010). Dieser Schluss ist im Einklang mit der Beobachtung, dass die Stabilisierung des Gelernten in einem geringen Maß schlafabhängig zu sein scheint als das *offline improvement* (Robertson et al., 2004a).

1.6 Ethikvotum

Die Studie wurde im Einklang mit der Deklaration von Helsinki konzipiert und von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität im Vorfeld der Datenerhebung genehmigt (Studennummer 3347, Amendment vom 05.11.2014).

1.7 Ziele der Arbeit

Die vorliegende Arbeit dient der Untersuchung der Frage nach der funktionellen Bedeutung des linken PMC auf die Akquisition und frühe Konsolidierung einer implizit erlernten motorischen Sequenz. Anders als in vorangegangenen Studien, galt in der vorliegenden Arbeit ein besonderes Interesse der frühen schlafunabhängigen Konsolidierung, die als verminderte Interferenzneigung untersucht wurde.

Um sicherzustellen, dass die *Offline*-Effekte der Stimulation in den Zeitraum der frühen schlafunabhängigen Konsolidierung fallen, wurde die tDCS in der vorliegenden Arbeit unmittelbar vor dem Erlernen der motorischen Sequenz appliziert. Die zugrunde liegende Idee war, dass die tDCS vor dem Erlernen einer motorischen Sequenz, die neurophysiologischen Prozesse die dem motorischen Lernen unterliegen, bahnt und so die schlafunabhängige Konsolidierung faszilitieren könnte. Der Effekt der tDCS während der Akquisition wurde in einem zweiten Experiment unter sonst gleichen Versuchsbedingungen überprüft. Die Daten dieses Experiments sind zwar in die nachfolgende Publikation eingegangen, wurden aber nicht im Rahmen der vorliegenden Dissertation erhoben und ausgewertet. Aus diesem Grund finden diese Daten keine Berücksichtigung in der vorliegenden Niederschrift.

Die Versuchsanordnung der vorliegenden Arbeit ermöglicht, den Effekt der tDCS sowohl auf die Akquisition als auch auf die Konsolidierung zu untersuchen. Aufgrund der Ergebnisse der Studien von Nitsche et al. (2003, 2010), wurde ein Effekt auf die Konsolidierung, nicht aber auf die Akquisition erwartet. Allerdings wurde in diesen Arbeiten nicht vor dem Erlernen der Sequenz stimuliert. Unter der Annahme, dass die tDCS neuroplastische Prozesse bahnt, die dem motorischen Lernen zugrunde liegen, sollte sich ein polaritätsabhängiger Effekt der tDCS auf die Akquisition und / oder die Interferenzneigung zeigen, wenn der PMC relevant für diese Prozesse sein sollte.



Research report

Cathodal transcranial direct current stimulation (tDCS) applied to the left premotor cortex (PMC) stabilizes a newly learned motor sequence



Jan Focke, Sylvia Kemmet, Vanessa Krause, Ariane Keitel, Bettina Pollok*

Heinrich-Heine University Duesseldorf, Medical Faculty, Institute of Clinical Neuroscience and Medical Psychology, Germany

HIGHLIGHTS

- Left PMC tDCS during motor sequence learning does not affect reaction times.
- Left PMC tDCS prior to motor sequence learning non-specifically facilitates reaction times.
- Cathodal PMC tDCS prior to motor sequence learning yields reduced interference.
- The PMC might be related to stabilization but not acquisition of a motor sequence.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 July 2016

Received in revised form 8 August 2016

Accepted 12 August 2016

Available online 16 August 2016

Keywords:

Motor learning

Motor cortex

NMDA

Plasticity

Sequence learning

SRTT

ABSTRACT

While the primary motor cortex (M1) is involved in the acquisition the premotor cortex (PMC) has been related to over-night consolidation of a newly learned motor skill. The present study aims at investigating the possible contribution of the left PMC for the stabilization of a motor sequence immediately after acquisition as determined by susceptibility to interference. Thirty six healthy volunteers received anodal, cathodal and sham transcranial direct current stimulation (tDCS) to the left PMC either immediately prior to or during training on a serial reaction time task (SRTT) with the right hand. TDCS was applied for 10 min, respectively. Reaction times were measured prior to training (t1), at the end of training (t2), and after presentation of an interfering random pattern (t3). Beyond interference from learning, the random pattern served as control condition in order to estimate general effects of tDCS on reaction times. TDCS applied during SRTT training did not result in any significant effects neither on acquisition nor on susceptibility to interference. In contrast to this, tDCS prior to SRTT training yielded an unspecific facilitation of reaction times at t2 independent of tDCS polarity. At t3, reduced susceptibility to interference was found following cathodal stimulation. The results suggest the involvement of the PMC in early consolidation and reveal a piece of evidence for the hypothesis that behavioral tDCS effects vary with the activation state of the stimulated area.

© 2016 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Implicit motor learning plays an important role for the acquisition of new motor skills and is therefore substantial for the successful and effortless interaction with our physical environment. Imaging studies suggest that implicit motor learning requires the interaction of a cortical-subcortical network [1–3]. The primary motor cortex (M1) has been identified as a key structure for the acquisition and early consolidation [4–8] in particular of repetitive movements [9]. After initial acquisition the new motor skill

becomes consolidated as indicated by further improvement without additional training (i.e. offline-improvement) [10,11] and/or reduced susceptibility to interference (i.e. stabilization) [12,13]. Within a time period of 6 h after acquisition of a new motor skill an activation shift from prefrontal to posterior parietal and premotor cortices (PPC, PMC) was found using positron emission tomography (PET) [14] suggesting that consolidation may be rather associated with these areas.

The dorsal PMC (dPMC) is involved in the selection of movements guided by visual stimuli [15,16] and is particularly important for choice reaction time tasks requiring subjects to select a response following visual discrimination [17]. Single cell recordings in the monkey's dPMC suggest its relevance for the generation of motor programs from maintained information [18]. These data suggest the involvement of the PMC in motor consolidation to be likely. Support

* Corresponding author at: Institute of Clinical Neuroscience and Medical Psychology, Heinrich-Heine University, Universitaetsstr. 1, 40225 Duesseldorf, Germany.
E-mail address: bettina.pollok@uni-duesseldorf.de (B. Pollok).

for this hypothesis comes from studies showing that modulation of cortical excitability by repetitive transcranial magnetic (rTMS) [19,20] or transcranial direct current stimulation (tDCS) affects consolidation [21,22] without interfering with the acquisition of a motor sequence [6].

TDCS has been proven to successfully modulate cortical excitability and hereby motor learning when applied to M1 [6,23–27]. TDCS effects on motor-evoked potentials (MEP) vary with its polarity suggesting that anodal stimulation enhances cortical excitability via neuronal depolarization while cathodal stimulation yields diminished excitability by hyperpolarization [23,28]. Depending on the intensity and duration of stimulation, effects may persist even after tDCS cessation presumably due to synaptic neuroplasticity [23].

Behavioral tDCS effects on motor sequence consolidation vary with the time point of stimulation: While anodal tDCS applied to the PMC *during* training on a serial reaction time task (SRTT) [29] attenuated stabilization of the learned motor sequence [21], a facilitating effect of tDCS applied *after* training was found when stimulation was carried out during rapid eye movement (REM) sleep but not in awake volunteers [22]. The results led to the hypothesis that tDCS effects may vary with baseline cortical activation as shown for TMS [30] and point to the significance of the PMC for later stages of motor sequence consolidation particularly over-night.

Increased PMC activation during the initial state of learning [31] suggests its potential involvement in stabilization of the new movement pattern. The present study aims at elucidating whether modulation of left PMC excitability by means of tDCS may interfere with such stabilization of a newly learned motor sequence as indicated by susceptibility to interference. In accordance with previous studies we hypothesized that tDCS does not affect the acquisition but the stabilization of a new motor sequence. Since TMS effects have been shown to depend on the activation level during stimulation suggesting a higher susceptibility of less activated areas [30,32], we expect stronger effects of tDCS applied prior to SRTT training as compared to tDCS applied during training.

2. Material and methods

2.1. Subjects

Thirty six healthy volunteers (18 male) aged between 20 and 30 years (24.0 ± 0.4 years; mean \pm standard error of the mean; SEM) were recruited for the study. According to the Edinburgh Handedness Inventory [33] all participants were classified as right-handed with a mean lateralization ratio of 98.9 ± 0.6 . Participants with individual or family history of epileptic seizures or other severe neurological, psychiatric or internal diseases were excluded from the study. All volunteers gave their written informed consent prior to their participation. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethics committee (study number 3347).

2.2. Paradigm

The study was implemented as a sham-controlled, double-blinded design. Participants were naïve regarding the exact purpose of the study. None of them had received electrical brain stimulation before. Participants and the main investigator were blinded regarding the exact tDCS condition. To this end, a second investigator ran the DC stimulator that was hidden under a paperboard till the end of the experiment.

Participants were assigned to two groups of 18 participants, respectively. One group (10 male) received tDCS immediately prior to training on the SRTT (experiment 1) while in the other group (8

male) tDCS was applied during training (experiment 2). The participants attended three sessions receiving either anodal, cathodal or sham tDCS applied to the left PMC corresponding to Brodmann area 6. Sessions were separated by at least one week in order to minimize carry-over effects. The order of stimulation types was counterbalanced across subjects. To measure tDCS effects on implicit motor sequence learning the SRTT was employed.

2.3. Serial reaction time task (SRTT)

The SRTT represents a standard paradigm for the investigation of motor learning [29]. Four response keys of a custom-made button box anatomically aligned to the right hand corresponded to four horizontally aligned bars presented on a projection screen in front of the participants (distance: 2.55 m; visual angle: 20.21°). The participants were asked to react as fast and as accurately as possible as soon as one of the 4 bars changed its colour from dark blue to light blue with the thumb (1), index finger (2), middle finger (3), or ring finger (4). The correct response triggered the color change of the next bar with a fixed delay of 1 s. The response box was connected to a standard Windows PC. E-Prime (Psychology Software Tools Inc.) was used for timing of the SRTT and recording of reaction times.

The SRTT consisted of a sequential and a randomly varying pattern consisting of eight bars, respectively. Since subjects participated in three subsequent sessions, three versions of the SRTT were adopted to avoid learning effects of the preceding sessions: 4-2-1-3-4-3-1-2 (sequence 1); 3-4-2-1-2-4-3-1 (sequence 2); 3-2-1-4-3-2-4-1 (sequence 3). The participants were kept naïve about the sequential order of stimuli. The random condition was applied in order to control for a general facilitation of reaction times – independent of sequence learning and required 8 button presses with respect to randomly presented stimuli. The frequency probability of each single stimulus was kept constant across both conditions.

Each session started with a baseline measurement for the random and sequential condition, respectively. Baseline reaction times were determined by averaging across two sequential and two random trials (i.e. 16 button presses, respectively). After baseline measurement, tDCS was applied for 10 min during rest in experiment 1. Immediately after tDCS, the participants were trained on the SRTT. To this end, the sequence was presented in three blocks interrupted by two breaks of two minutes, respectively. Each block started with two repetitions of the random condition followed by 4 repetitions of the sequence. The breaks were inserted in order to keep the stimulation duration equal in both experiments. In experiment 2, subjects were trained on the SRTT immediately after baseline assessment and tDCS was applied during training. In order to determine possible tDCS effects on motor sequence stabilization the random pattern was presented twice, followed by two repetitions of the sequence. Stabilization was determined immediately after training on the SRTT.

The repetition rate was chosen according to a pilot study in which higher repetition rates (i.e. more than 10) led to an increase of reaction time variability and an overall increase of reaction times.

To control for the possibility of explicit learning participants were asked verbally after each session whether they had recognized anything during the task. Six participants reported to suspect a system or sequence behind the task. One participant was able to reproduce 4, one subject correctly recollected 3 and another one 2 out of 8 items. The experimental procedure is summarized in Fig. 1. Each experimental session took about 30 min including preparation and follow-up-procedures.

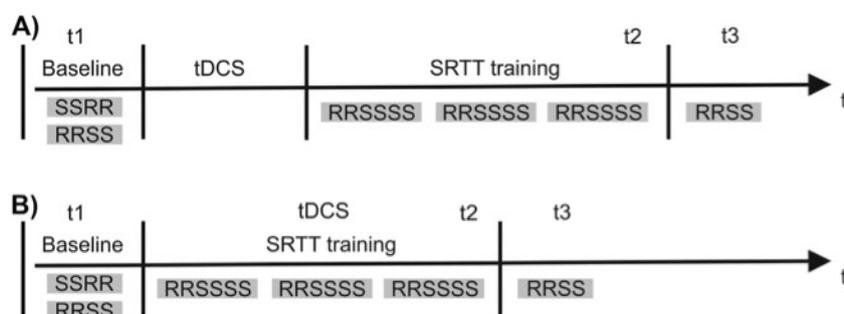


Fig 1. Schematic illustration of the experimental design. TDCS was applied for 10 min *prior* to SRTT training in experiment 1 (A) and *during* training in experiment 2 (B). Each session started with a baseline measurement (t1). At the end of SRTT training (t2) reaction times were determined as a measure of motor sequence acquisition. Immediately after training, tDCS effects on susceptibility to interference (t3) were determined. The presented sequence (S) was interleaved by a randomly varying pattern (R) in order to prevent the participants from gaining explicit knowledge about the sequence and to determine tDCS effects on interference. The order of random and sequential trials at t1 was counterbalanced across subjects and tDCS conditions.

2.4. Neuronavigation

The left M1 was located using single pulse TMS to ensure that it does not fall into the field of left PMC stimulation. A standard figure of eight coil (MC-B70) connected to a MagPro stimulator (Mag Venture, Hückelhoven, Germany) was placed tangentially to the scalp to trigger MEPs. By this means the cortical representation of the right first dorsal interosseus (FDI) muscle was localized. Then the point evoking the largest motor response was located by moving the coil in 0.5 cm steps across the scalp. This point was determined as motor hot spot. Subsequently, PMC was located using a neuronavigation system (LOCALITE, Sankt Augustin, Germany) based on a standard brain. Mean Talairach coordinates of the target area were $-29.25\ 5.07\ 47.30$ (x y z). The target area was pre-defined according to a variety of functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies. Prior to each measurement, anatomical landmarks were determined in each participant. By means of the neuronavigation software individual anatomical data were transformed with respect to the standard brain. Due to variability in the determination of individual landmarks, slight differences between measurements may occur.

2.5. Transcranial direct current stimulation (tDCS)

TDCS was applied through saline-soaked sponge electrodes placed on the skin surface. The stimulation electrode ($3 \times 3\text{ cm}^2$) was placed above the left PMC and the reference electrode ($7 \times 5\text{ cm}^2$) above the right orbit. To fixate the electrodes, self-adhesive bandages (Coban, 3 M Deutschland GmbH, Neuss, Germany) were used. For application of tDCS, a battery-driven DC-Stimulator Plus (Eldith, NeuroConn, Ilmenau, Germany) was employed. In each experiment tDCS was applied for 10 min plus a fade-in and fade-out period of 10 s, each with an intensity of 0.25 mA corresponding to a current density of 0.028 mA/cm^2 below the stimulation electrode. In experiment 2, application of tDCS covered the entire SRTT training period. By applying a smaller stimulation and a larger reference electrode and adjusting the stimulation intensity with respect to the size of the stimulation electrode, we tried to increase the focality of tDCS below the stimulation electrode [34]. For sham stimulation, the stimulator automatically switched off after 30 s of either anodal or cathodal stimulation yielding the typical sensations associated with tDCS like a slight tingling without affecting neuronal excitability. Impedance was kept below 10 kOhm (mean impedance: $8.0 \pm 0.2\text{ kOhm}$).

After each session participants completed a stimulation questionnaire. They were asked to estimate whether they had received active or sham stimulation. If active stimulation was chosen, they

were asked to estimate whether anodal or cathodal stimulation was applied. Furthermore, the participants rated their subjective confidence on a numerical rating scale from 1 (totally uncertain) to 10 (totally certain).

2.6. Data analysis

Reaction times (RT) were determined as the time period from the onset of the visual stimulus until the onset of the correct button press. The data below and above individual and group means \pm two standard deviations were classified as outliers and discarded from further analysis. Mean RT were calculated separately for each condition (random vs. sequential) at baseline (t1), end of training (t2) and interference (t3). RT at t1 were calculated by averaging the two baseline trials. At t2, RT of the two random trials at the beginning of the last block and the last two sequential trials at the end of the last block were averaged across participants. Finally, the mean RT across the last two sequential trials served as estimate of susceptibility for interference at t3. Data analysis was conducted by means of IBM SPSS Statistics 22. Analyses of variance (ANOVA) were implemented for each experiment, respectively with within-subject-factors *stimulation* (anodal vs. cathodal vs. sham), *time* (t1 vs. t2 vs. t3) and *condition* (sequential vs. random). For post-hoc comparisons paired *t*-tests were calculated. P-values below 0.05 were considered to be significant. Errors were not analyzed quantitatively since error rates were below 5%.

3. Results

Participants in both experiments did not significantly differ with respect to age ($F(1,17)=2.49$, $p=0.133$) and handedness ($F(1,17)=0.02$, $p=0.891$). In experiment 1 5.6% and in experiment 2 4.6% of individual data were excluded prior to the final analysis.

3.1. TDCS parameters

The mean distance between M1 hot spot and the PMC target area was $4.6 \pm 0.2\text{ cm}$ (sham), $4.3 \pm 0.2\text{ cm}$ (anodal) and $4.4 \pm 0.2\text{ cm}$ (cathodal) and did not differ significantly between sessions ($F(2,70)=1.25$, $p=0.294$). PMC coordinates as determined by neuronavigation prior to each session did not significantly differ between stimulation conditions ($F(2,70)=0.49$, $p=0.615$).

3.1.1. Blinding

Active stimulation (anodal and cathodal) was correctly identified in 39% while sham stimulation was correctly identified in 9% of all measurements (mean confidence rating: 5.8 ± 0.7). Out of all verum tDCS conditions, anodal tDCS was correctly assumed in

39% (mean confidence rating: 3.6 ± 0.6) and cathodal stimulation was correctly identified in 11% (mean confidence rating: 4.8 ± 1.6). Despite a slightly higher hit rate of anodal tDCS, overall percentage rate was below chance level suggesting that blinding of participants was successful.

3.2. Experiment 1 – tDCS prior to SRTT training

Kolmogorov-Smirnov tests suggested that all data were normally distributed ($p > 0.200$). ANOVA revealed significant main effects of factors time ($F(2,20) = 14.84$, $p < 0.001$) and condition ($F(1,10) = 5.31$, $p = 0.044$) as well as a significant stimulation \times time \times condition interaction ($F(4,40) = 3.13$, $p = 0.025$). The comparison of RT at t1 and t2 using post-hoc t -tests revealed significantly faster RT following sham tDCS in sequential ($t(15) = 3.26$, $p = 0.005$) and random trials ($t(15) = 3.64$, $p = 0.002$). Following anodal tDCS, faster RT were found in sequential as well as random trials, but both comparisons marginally missed significance (sequential: ($t(15) = 2.13$, $p = 0.050$), random: ($t(15) = 2.08$, $p = 0.055$). Following cathodal tDCS significantly faster RT in sequential ($t(15) = 3.92$, $p = 0.001$) and random trials ($t(15) = 2.34$, $p = 0.033$) were observed.

The comparison between conditions at the three time points of interest revealed no significant differences between random and sequential trials at t1 independent of stimulation type (sham: $t(16) = 0.97$, $p = 0.345$; anodal: $t(16) = -0.94$, $p = 0.718$; cathodal: $t(15) = -1.39$, $p = 0.186$). At t2, significantly faster RT in sequential as compared to random trials were found following sham stimulation ($t(16) = -3.04$, $p = 0.024$) suggesting that despite the relatively low repetition rate the task was suitable to induce motor learning. No significant differences between conditions were found following anodal ($t(15) = -1.09$, $p = 0.882$) and cathodal stimulation ($t(15) = -2.27$, $p = 0.076$). Most importantly, at t3, following cathodal stimulation RT in sequential trials were significantly faster as compared to random trials ($t(16) = -3.59$, $p = 0.018$), while no significant differences were found following anodal ($t(16) = 0.38$, $p = 0.711$) or sham stimulation ($t(16) = -2.35$, $p = 0.064$). Results are summarized in Fig. 2.

3.3. Experiment 2 – tDCS during SRTT training

Kolmogorov-Smirnov tests suggested Gaussian distribution of the data ($p > 0.200$). The ANOVA revealed a significant main effect of condition ($F(1,8) = 7.65$, $p = 0.024$) suggesting that RT were significantly faster in sequential as compared to random trials. No other main effect or interaction reached significance ($p > 0.108$) suggesting that tDCS during SRTT training did not significantly affect reaction times (Fig. 3).

Although we realize that results from the ANOVA do not justify post-hoc tests, we calculated t -tests for the sham condition in order to control whether learning had occurred in experiment 2. A trend towards faster RT at t2 as compared to t1 was found in the sequential condition ($t(17) = 1.18$, $p = 0.09$). The comparison of RT between conditions (random vs. sequential) revealed significantly faster RT in the sequential condition at t2 ($t(16) = -4.22$, $p = 0.001$) while at t1 no significant differences emerged ($t(16) = -0.69$, $p = 0.50$) suggesting that SRTT training was suitable to induce motor learning.

4. Discussion

The present study aimed at investigating the effect of premotor cortex tDCS on the acquisition and stabilization of an implicitly learned motor sequence. Stabilization was determined by susceptibility to interference at the end of training on a SRTT. In two experiments tDCS was applied either before or during SRTT training and reaction times were determined at baseline (t1), at the

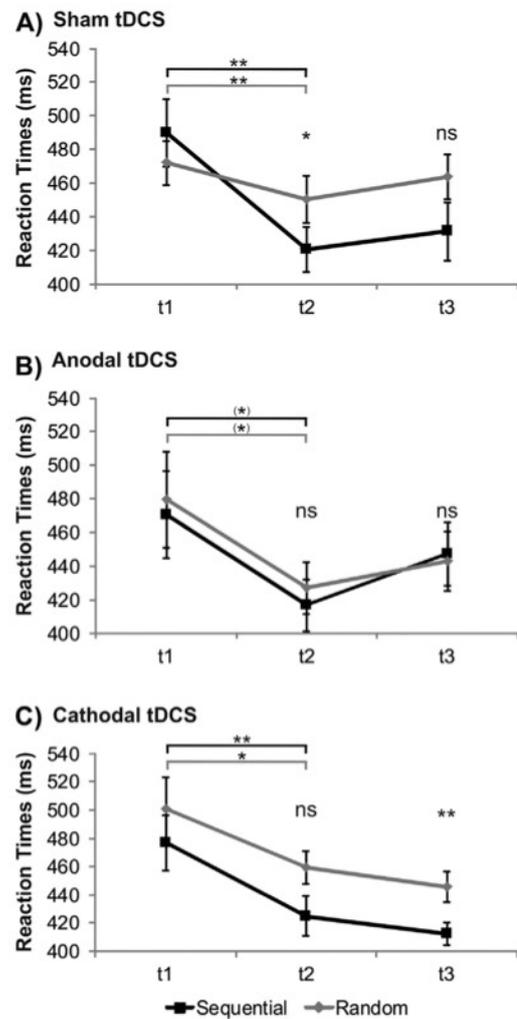


Fig. 2. Experiment 1–tDCS applied prior to SRTT training: Reaction times over time (t1–t3) for sequential and random trials following sham (A), anodal (B) and cathodal (C) tDCS. Motor learning as indicated by significantly faster reaction times at t2 in sequential as compared to random trials was found following sham stimulation only. At t3, cathodal stimulation yielded significantly faster RT in the sequential as compared to the random trials, indicating less interference by the randomly varying pattern. Error bars indicate the standard error of the mean (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$).

end of training (t2), and after presentation of an interfering random pattern (t3). Supporting our hypothesis, the results reveal an effect of PMC tDCS on reaction times when stimulation was applied prior to acquisition – presumably when PMC activation was rather low, only. Facilitation of reaction times during acquisition in random trials suggests a non-specific effect of tDCS independent of polarity. Most importantly, the data reveal evidence for reduced susceptibility to interference following cathodal tDCS suggesting that reducing PMC excitability immediately prior to learning may stabilize a newly learned motor sequence.

4.1. TDCS effects on reaction times at the end of SRTT training

Results from experiment 1 suggest facilitation of reaction times in random as well as sequential trials indicating non-specific tDCS effects. Although one might argue that faster RT are simply due to practice with the task, results from the sham condition argue against this hypothesis since RT were significantly faster in sequential as compared to random trials at t2.

Facilitation of RT was found independent of tDCS polarity. This result is at least partly in line with data from a previous study show-

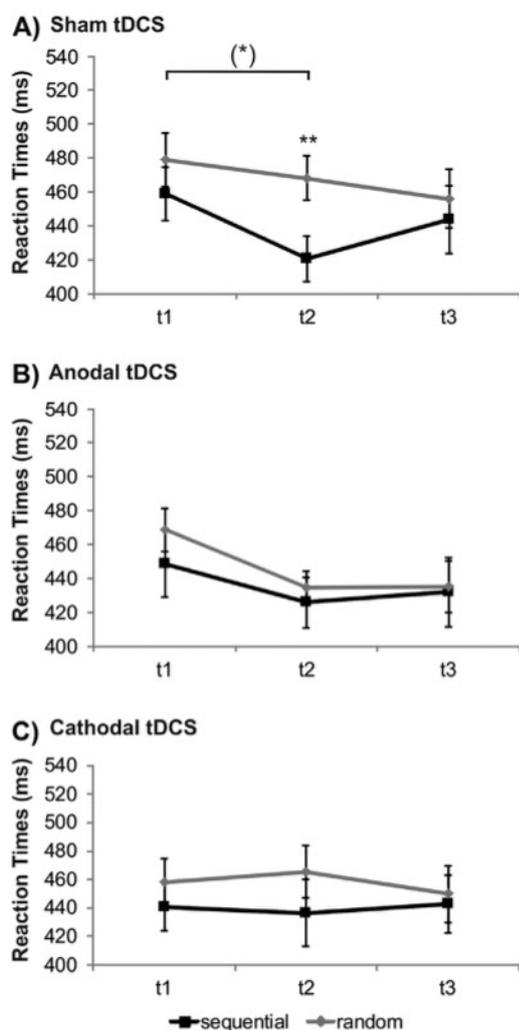


Fig. 3. Experiment 2–tDCS applied during SRTT training: Reaction times over time (t1–t3) for sequential and random trials following sham (A), anodal (B) and cathodal (C) tDCS. During sham stimulation a trend toward significantly faster RT at t2 as compared to t1 emerged in the sequential condition. At t2 the analysis suggests significantly faster RT in sequential as compared to random trials. Please note that despite a significant main effect of factor *condition*, no significant interactions emerged. Thus, the impression that anodal and cathodal tDCS may have compromised motor sequence learning is not supported by the statistics. Error bars indicate the standard error of the mean ($*$) = $p = 0.09$; $** = p < 0.01$).

ing a facilitating effect of cathodal tDCS on reaction times following M1 tDCS [6]. It has been argued by the authors that this effect might be due to noise reduction.

4.2. Effects of tDCS timing

In line with previous studies [35–37] effects of tDCS differed depending on the timing of stimulation. The current findings support the hypothesis that the state of activation might be crucial for stimulation effects which – in the present study – were found only, when tDCS was applied during rest. Since movement execution is associated with increased PMC activation, the present data suggest that tDCS is less suitable to induce behavioral effects when the target area is activated. This result agrees well with the hypothesis that cortical brain areas with lower activation levels are more susceptible to TMS [30,32,38]. Although our findings are in line with recent findings applying tDCS to M1 [37], we realize that this interpretation contradicts other findings suggesting a modulatory effect on motor learning when tDCS was applied to M1 *during* training

on the SRTT [6,24]. These conflicting findings point to an interaction between timing and location of tDCS. Nevertheless, we realize that in experiment 2 learning effects were rather weak. Thus, the present data should only be seen as a piece of evidence for the hypothesis that tDCS effects on reaction times may vary depending on the activation state of the stimulated brain area.

4.3. Motor sequence stabilization by cathodal tDCS

As the most important finding, stabilization of a previously learned motor sequence was evident following cathodal tDCS, only. In general, this result supports data revealing evidence for the involvement of the left PMC in motor consolidation [19–22]. But, in contrast to our data anodal tDCS applied during training on a SRTT has been found to attenuate motor consolidation [21] while improvement was observed when excitatory 5 Hz rTMS was applied to PMC prior to training [19]. Importantly, these studies tested the effects of tDCS/rTMS at later stages of the consolidation process by testing reaction times with an over-night delay and it has been shown that distinct brain networks may mediate short- and long-term motor learning [39]. Moreover, in the study by Kantak et al. [21] effects of tDCS on sequence learning with the left hand were investigated. Thus, learning differences depending on hand dominance might have contributed to differences between studies. A specific significance of the PMC for motor sequence consolidation during sleep is supported by Nitsche et al. showing offline improvement by anodal tDCS of the PMC applied during REM sleep [22]. In that study, PMC tDCS applied about four hours after training on the SRTT served as control condition that did not reveal evidence for a significant effect on reaction times. Since tDCS after-effects on motor cortex excitability have been suggested as being N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor dependent [40] tDCS likely interferes with alterations of learning-related NMDA receptor strength. More precisely, increased excitability can enhance the chance of forming stronger synaptic connections between activated neurons. Thus, the lack of significant tDCS effects on reaction times by Nitsche et al. [22] might be due to a temporal mismatch between learning- and tDCS-induced changes on NMDA receptor strength. The present results reveal a piece of evidence for the hypothesis that the PMC is involved in motor sequence stabilization and add to the existing knowledge by revealing evidence for its potential involvement in early motor consolidation independent of sleep.

The observation that cathodal tDCS yielded motor stabilization as indicated by reduced susceptibility to interference was surprising and implies that activation of PMC during motor sequence acquisition might be adverse to stabilization of the sequence. Learning and early stabilization of a motor sequence has been particularly related to M1 [4–8]. Individual movements are likely to be represented in M1 [7]. Given that sequences are composed of individual movements and that complex movements are represented in PMC, it is likely that M1 and PMC need to closely interact during learning and early consolidation in order to establish the representation of the entire sequence. Findings of single cell recordings in monkeys may support this hypothesis by showing that increased PMC activity during learning of visuo-motor associations shortly lags behind the learning curve suggesting that a new association needs to be established prior to increase of PMC activity [41].

M1 has been found to be particularly involved in early motor consolidation within a time window between 1 and 6 h after training [14,42–45]. Thus, anodal tDCS applied to M1 is expected to facilitate motor sequence learning – a hypothesis confirmed by previous data [6,24]. The present data argue in favor of a competition between PMC and M1 at this early stage of motor sequence consolidation. Reduced PMC excitability due to cathodal tDCS may reduce interference between both areas facilitating encoding of sin-

gle movements within M1 and finally resulting in the observed sequence stabilization.

4.4. Limitations

One major limitation of the present study is the relatively low repetition rate of the SRTT during training. Thus, one might argue that a robust learning effect was not induced. This interpretation is supported by the findings from experiment 2, in which even during sham stimulation a trend for a facilitation of reaction times in sequential trials was found, only. Based on data from the sham stimulation in experiment 1, we would like to argue against this possibility since a significant facilitation of RT in sequential as compared to random trials was evident. A second limitation of the study is the selection of the interfering pattern. One might argue that a random pattern might not be the optimal way to induce interference. Again, we would argue that in the sham condition the random pattern was suitable to slow down reaction times to baseline level. Thus, a certain amount of interference was observed, although we realize that learning of an interfering sequence would have been more suitable for the investigation of motor sequence consolidation. Finally, both experiments differ with respect to the time interval between measurement of reaction times at t1 on the one hand and t2 and t3 on the other hand. In order to keep conditions in both experiments as comparable as possible, in experiment 2 a 10-min break after t1 would have been necessary. Although we cannot definitely rule out the possibility that this difference of the experimental settings may have contributed to the present findings, we would argue that the effect observed at t3 in experiment 1 is less likely due to differences between experimental settings since the time interval between t2 and t3 did not differ between experiments.

5. Conclusion

The present results replicate previous findings showing that tDCS applied to the left PMC does not affect the acquisition of an implicit motor sequence although a non-specific facilitation of reaction times was found. A beneficial effect on sequence consolidation was evident following cathodal tDCS, but only when it was delivered prior to sequence acquisition. The results may point to a competition between M1 and PMC during early consolidation that can be modulated by tDCS.

Conflict of interest

All authors declare no competing interests which could have influenced the present work.

Funding

This work was supported by two grants from the Research Commission of the Medical Faculty of the Heinrich-Heine University (9772440 to B.P. and 9772467 to V.K.).

References

- [1] S.T. Grafton, E. Hazeltine, R. Ivry, Functional mapping of sequence learning in normal humans, *J. Cognit. Neurosci.* 7 (1995) 497–510.
- [2] R.D. Seidler, A. Purushotham, S.G. Kim, K. Ugurbil, D. Willingham, J. Ashe, Neural correlates of encoding and expression in implicit sequence learning, *Exp. Brain Res.* 165 (2005) 114–124.
- [3] J. Doyon, P. Bellec, R. Amsel, V. Penhune, O. Monchi, J. Carrier, S. Lehericy, H. Benali, Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning, *Behav. Brain Res.* 199 (2009) 61–75.
- [4] A. Karni, G. Meyer, P. Jezzard, M.M. Adams, R. Turner, L.G. Ungerleider, MRI functional evidence for adult motor cortex plasticity during motor skill learning, *Nature* 377 (1995) 155–158.
- [5] L. Wilkinson, J.T. Teo, I. Obeso, J.C. Rothwell, M. Jahanshahi, The contribution of primary motor cortex is essential for probabilistic implicit sequence learning: evidence from theta burst magnetic stimulation, *J. Cognit. Neurosci.* 22 (2010) 427–436.
- [6] M.A. Nitsche, A. Schauenburg, N. Lang, D. Liebetanz, C. Exner, W. Paulus, F. Tergau, Facilitation of implicit motor learning by weak transcranial direct current stimulation of the primary motor cortex in the human, *J. Cognit. Neurosci.* 15 (2003) 619–626.
- [7] W. Muellbacher, U. Ziemann, J. Wissel, N. Dang, M. Kofler, S. Facchini, B. Boroojerdi, W. Poewe, M. Hallett, Early consolidation in human primary motor cortex, *Nature* 415 (2002) 640–644.
- [8] J.M. Galea, A. Vazquez, N. Pasricha, J.J. de Xivry, P. Celnik, Dissociating the roles of the cerebellum and motor cortex during adaptive learning: the motor cortex retains what the cerebellum learns, *Cereb. Cortex* 21 (2011) 1761–1770.
- [9] N. Censor, L.G. Cohen, Using repetitive transcranial magnetic stimulation to study the underlying neural mechanisms of human motor learning and memory, *J. Physiol. (Lond.)* 589 (2011) 21–28.
- [10] E.M. Robertson, A. Pascual-Leone, R.C. Miall, Current concepts in procedural consolidation, *Nat. Rev. Neurosci.* 5 (2004) 576–582.
- [11] J. Reis, E. Robertson, J.W. Krakauer, J. Tothwell, L. Marshall, C. Gerloff, E. Wassermann, A. Pascual-Leone, F. Hummel, P.A. Celnik, J. Classen, A. Floel, U. Ziemann, W. Paulus, H.R. Siebner, J. Born, L.G. Cohen, Consensus: can tDCS and TMS enhance motor learning and memory formation? *Brain Stimul.* 1 (2008) 363–369.
- [12] M.P. Walker, T. Brakefield, A. Morgan, J.A. Hobson, R. Stickgold, Practice with sleep makes perfect: sleep-dependent motor skill learning, *Neuron* 35 (2002) 205–211.
- [13] J.W. Krakauer, R. Shadmehr, Consolidation of motor memory, *Trends Neurosci.* 29 (2006) 58–64.
- [14] R. Shadmehr, H.H. Holcomb, Neural correlates of motor memory consolidation, *Science* 277 (1997) 821–825.
- [15] N. Picard, P.L. Strick, Imaging the premotor areas, *Curr. Opin. Neurobiol.* 11 (2001) 663–672.
- [16] D. Boussaoud, S.P. Wise, Primate frontal-cortex – effects of stimulus and movement, *Exp. Brain Res.* 95 (1993) 28–40.
- [17] N.D. Schluter, M. Krams, M.F.S. Rushworth, R.E. Passingham, Cerebral dominance for action in the human brain: the selection of actions, *Neuropsychologia* 39 (2001) 105–113.
- [18] M. Ohbayashi, K. Ohki, Y. Miyashita, Conversion of working memory to motor sequence in the monkey premotor cortex, *Science* 301 (2003) 233–236.
- [19] L.A. Boyd, M.A. Lindsell, Excitatory repetitive transcranial magnetic stimulation to left dorsal premotor cortex enhances motor consolidation of new skills, *BMC Neurosci.* 10 (2009) 72.
- [20] S.K. Meehan, J.R. Zabukovec, E. Dao, K.L. Cheung, M.A. Lindsell, L.A. Boyd, One hertz repetitive transcranial magnetic stimulation over dorsal premotor cortex enhances offline motor memory consolidation for sequence-specific implicit learning, *Eur. J. Neurosci.* 38 (2013) 3071–3079.
- [21] S.S. Kantak, C.K. Mummidisetty, J.W. Stinear, Primary motor and premotor cortex in implicit sequence learning—evidence for competition between implicit and explicit human motor memory systems, *J. Neurosci.* 36 (2012) 2710–2715.
- [22] M.A. Nitsche, M. Jakoubkova, N. Thirugnanasambandam, L. Schmalfluss, S. Hulleman, K. Sonka, W. Paulus, C. Trenkwalder, S. Happe, Contribution of the premotor cortex to consolidation of motor sequence learning in humans during sleep, *J. Neurophysiol.* 104 (2010) 2603–2614.
- [23] C.J. Stagg, M.A. Nitsche, Physiological basis of transcranial direct current stimulation, *Neuroscientist* 17 (2011) 37–53.
- [24] J. Reis, H.M. Schambra, L.G. Cohen, E.R. Buch, B. Fritsch, E. Zarahn, P.A. Celnik, J.W. Krakauer, Noninvasive cortical stimulation enhances motor skill acquisition over multiple days through an effect on consolidation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106 (2009) 1590–1595.
- [25] H.L. Filmer, P.E. Dux, J.B. Mattingley, Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function, *Trends Neurosci.* 37 (2014) 742–753.
- [26] F. Hashemirad, M. Zoghi, P.B. Fitzgerald, S. Jaberzadeh, The effect of anodal transcranial direct current stimulation on motor sequence learning in healthy individuals: a systematic review and meta-analysis, *Brain Cognit.* 102 (2016) 1–12.
- [27] E.K. Kang, N.J. Paik, Effect of a tDCS electrode montage on implicit motor sequence learning in healthy subjects, *Exp. Transl. Stroke Med.* 3 (2011) 4.
- [28] M.A. Nitsche, W. Paulus, Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation, *J. Physiol. (Lond.)* 527 (2000) 633–639.
- [29] M. Nissen, P. Bullemer, Attentional requirements of learning: evidence from performance measures, *Cognit. Psychol.* 19 (1987) 1–32.
- [30] J. Silvanto, N. Muggleton, V. Walsh, State-dependency in brain stimulation studies of perception and cognition, *Trends Cognit. Sci.* 12 (2008) 447–454.
- [31] E. Dayan, L.G. Cohen, Neuroplasticity subserving motor skill learning, *Neuron* 72 (2011) 443–454.
- [32] J. Silvanto, Z. Cattaneo, L. Battelli, A. Pascual-Leone, Baseline cortical excitability determines whether TMS disrupts or facilitates behavior, *J. Neurophysiol.* 99 (2008) 2725–2730.
- [33] R.C. Oldfield, The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory, *Neuropsychologia* 9 (1971) 97–113.

- [34] M.A. Nitsche, S. Doemkes, T. Karakose, A. Antal, D. Liebetanz, N. Lang, F. Tergau, W. Paulus, Shaping the effects of transcranial direct current stimulation of the human motor cortex, *J. Neurophysiol.* 97 (2007) 3109–3117.
- [35] D.M. Martin, R. Liu, A. Alonzo, M. Green, C.K. Loo, Use of transcranial direct current stimulation (tDCS) to enhance cognitive training: effect of timing of stimulation, *Exp. Brain Res.* 232 (2014) 3345–3351.
- [36] V. Giacobbe, H.I. Krebs, B.T. Volpe, A. Pascual-Leone, A. Rykman, G. Zeiarati, F. Fregni, L. Dipietro, G.W. Thickbroom, D.J. Edwards, Transcranial direct current stimulation (tDCS) and robotic practice in chronic stroke: the dimension of timing, *NeuroRehabilitation* 33 (2013) 49–56.
- [37] M.E. Cabral, A. Baltar, R. Borba, S. Galvao, L. Santos, F. Fregni, K. Monte-Silva, Transcranial direct current stimulation: before during, or after motor training? *Neuroreport* 26 (2015) 618–622.
- [38] J. Silvanto, N.G. Muggleton, A. Cowey, V. Walsh, Neural activation state determines behavioral susceptibility to modified theta burst transcranial magnetic stimulation, *Eur. J. Neurosci.* 26 (2007) 523–528.
- [39] A. Floyer-Lea, P.M. Matthews, Distinguishable brain activation networks for short- and long-term motor skill learning, *J. Neurophysiol.* 94 (2005) 512–518.
- [40] D. Liebetanz, M.A. Nitsche, F. Tergau, W. Paulus, Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability, *Brain* 125 (2002) 2238–2247.
- [41] A.R. Mitz, M. Godschalk, S.P. Wise, Learning-dependent neuronal-activity in the premotor cortex – activity during the acquisition of conditional motor associations, *J. Neurosci.* 11 (1991) 1855–1872.
- [42] T. Brashers-Krug, R. Shadmehr, E. Bizzi, Consolidation in human motor memory, *Nature* 382 (1996) 252–255.
- [43] E.M. Robertson, D.Z. Press, A. Pascual-Leone, Off-line learning and the primary motor cortex, *J. Neurosci.* 25 (2005) 6372–6378.
- [44] R. Shadmehr, T. Brashers-Krug, Functional stages in the formation of human long-term motor memory, *J. Neurosci.* 17 (1997) 409–419.
- [45] K. Janacsek, D. Nemeth, Predicting the future: from implicit learning to consolidation, *Int. J. Psychophysiol.* 83 (2012) 213–221.

3. Diskussion

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der funktionellen Bedeutung des linken PMC für das implizite Erlernen einer motorischen Sequenz mit der rechten Hand, genauer mit seiner Bedeutung für die Akquisition und die frühe schlafunabhängige Konsolidierung. Unter der Annahme, dass die tDCS LTP- und LTD-ähnliche Effekte induzieren kann, die denen des motorischen Lernens entsprechen, wurde erwartet, dass die tDCS vor dem Erlernen einer motorischen Sequenz neurophysiologische Prozesse bahnt, die dem motorischen Lernen unterliegen. Damit wäre eine Fazilitierung der Akquisition und / oder der Konsolidierung zu erwarten, sofern der PMC in diese Prozesse involviert ist. Die tDCS wurde über dem linken PMC unmittelbar vor der Akquisition einer motorischen Sequenz appliziert. Als Maß für den Lernprozess wurden die Reaktionszeiten vor (t1) und am Ende der Akquisition (t2) erhoben. Zur Beurteilung von Effekten auf die Konsolidierung wurde die Interferenzanfälligkeit unmittelbar nach der Akquisition (t3) als Indikator für die Stabilisierung der neu gelernten Sequenz bestimmt. Die Untersuchungsergebnisse legen in Übereinstimmung mit vorausgehenden Arbeiten nahe, dass der PMC nicht in die implizite Akquisition einer motorischen Sequenz involviert ist. Schnellere Reaktionszeiten sowohl in der sequentiellen als auch in der randomisierten Bedingung am Ende der Akquisition weisen darauf hin, dass der PMC relevant für die Bewegungsplanung ist, aber keine spezifische Bedeutung für Sequenzlernen zu haben scheint.

Der zentrale Befund der vorliegenden Arbeit ist, dass eine Modulation der PMC-Exzitabilität die Interferenzanfälligkeit unmittelbar nach der Akquisition beeinflusst. Interessanterweise zeigte sich eine Stabilisierung der gelernten motorischen Sequenz als Ausdruck einer verbesserten Konsolidierung allein nach der kathodalen tDCS. Diese Beobachtung legt die Hypothese nahe, dass der PMC einen nachteiligen Einfluss auf frühe Konsolidierungsprozesse haben könnte.

3.1 Bedeutung des PMC für die Sequenzakquisition

Zum Zeitpunkt t1 – also vor dem Lernen – unterschieden sich die Reaktionszeiten in der randomisierten und der sequentiellen Bedingung, unabhängig von der Stimulationsart, nicht signifikant von einander. Das Ausgangsniveau war somit für die drei Stimulationsbedingungen vergleichbar. Zum Zeitpunkt t2 – unmittelbar

nach dem Lernen – waren die Reaktionszeiten in der sequentiellen im Vergleich zur randomisierten Bedingung nach Schein-Stimulation signifikant schneller. Somit legen die Daten nahe, dass das Paradigma geeignet ist, motorisches Lernen zu induzieren. Sowohl nach anodaler als auch nach kathodaler tDCS zeigte sich eine Beschleunigung der Reaktionszeiten in der sequentiellen und der randomisierten Bedingung. Zum Zeitpunkt t2 zeigte sich somit kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Bedingungen. Die Ergebnisse deuten damit auf einen unspezifischen Effekt der tDCS auf die Reaktionszeiten – unabhängig von motorischem Lernen – hin.

Die Daten stimmen prinzipiell mit vorausgehenden Studien überein, die ebenfalls keine spezifische Beteiligung des PMC an der Akquisition einer motorischen Sequenz gezeigt haben (Nitsche et al., 2003, Shadmehr and Holcomb, 1997). Der gezeigte unspezifische Effekt der PMC-tDCS auf Reaktionszeiten wurde bisher nicht berichtet. Diese Beobachtung steht aber mit der Rolle des PMC bei der Bewegungsplanung und -auswahl in Einklang (Kantak et al., 2012b, Schluter et al., 1998), die von grundlegender Bedeutung für die Bewegungskontrolle – unabhängig vom Erlernen einer motorischen Sequenz – ist.

Interessanterweise gingen die anodale und die kathodale tDCS mit vergleichbaren Effekten einher. Solche gleichgerichteten Effekte wurden bereits in einer früheren Studie berichtet. So zeigten Nitsche et al. (2003), dass die während der Akquisition einer SRTT applizierte tDCS über M1, polaritätsunabhängig mit schnelleren Reaktionszeiten einherging. Auch wenn dieser Effekt in der kathodalen Bedingung nicht signifikant wurde, führten die Autoren als Erklärungsmöglichkeit für die ähnlichen Effekte der anodalen und kathodalen tDCS an, dass die kathodale Stimulation zu einer Reduktion der kortikalen Hintergrundaktivität geführt haben könnte (Nitsche et al., 2003). Als Konsequenz könnte die Wahrscheinlichkeit für eine Depolarisation der Zielneurone steigen. Nach dieser Überlegung würden die Effekte der anodalen Stimulation auf eine Verstärkung der für die Aufgabenausführung relevanten Neuronenaktivität zurückzuführen sein. Die Effekte der kathodalen Stimulation könnten hingegen auf einer Reduktion der die Aufgabenausführung störenden Aktivität beruhen. Unklar bleibt bei dieser Erklärung allerdings, warum die kathodale Stimulation vor allem

das Hintergrundrauschen und weniger die für die Aufgabenausführung relevante Neuronenaktivität beeinflussen sollte.

Möglicherweise sind die polaritätsunabhängigen Effekte in der vorliegenden Arbeit nicht auf eine Veränderung der Exzitabilität des PMC, sondern der Exzitabilität funktionell verbundener Areale zurückzuführen. Boros et al. (2008) applizierten die tDCS über dem linken PMC und beobachteten mithilfe von TMS nach anodaler tDCS eine verminderte intrakortikale Inhibition und eine gesteigerte intrakortikale Fazilitierung im Bereich des M1 als Ausdruck einer erhöhten M1-Exzitabilität. Die Autoren führten diesen Effekt auf die engen anatomischen und funktionellen Verbindungen zwischen den Arealen zurück. Vor dem Hintergrund dieser Arbeit wäre denkbar, dass die in der vorliegenden Studie gezeigten Verhaltenseffekte nicht auf eine Veränderung der Exzitabilität des PMC, sondern des M1 zurückgeführt werden könnte. Zwei Argumente sprechen jedoch gegen diese Annahme: Wenn der Verhaltenseffekt allein durch eine Modulation in M1 hervorgerufen worden wäre, müsste man nach anodaler tDCS die von Nitsche et al. (2003) gezeigte Fazilitierung beobachten. Darüber hinaus führte in der Untersuchung von Boros et al. (2008) die kathodale tDCS des PMC, im Gegensatz zur anodalen Stimulation, zu keiner Veränderung der M1-Exzitabilität. Somit waren die Auswirkungen der PMC-tDCS auf die Exzitabilität von M1 polaritätsabhängig und können daher nicht als Erklärung für die in der vorliegenden Arbeit beobachteten polaritätsunabhängigen Effekte fungieren. Eine alternative Erklärung bietet die Beobachtung, dass die tDCS unabhängig von der Polarität bei höheren Stromstärken mit einer Zunahme der Exzitabilität einhergeht (Batsikadze et al., 2013). Diesem Phänomen als Ursache der Ergebnisse widersprechen allerdings die differenziellen Effekte der anodalen und kathodalen tDCS zum Zeitpunkt t3. Zudem ist die verwendete Stromstärke von 250 μ A als eher gering zu bewerten. Ein weiterer Erklärungsansatz könnte darin liegen, dass polaritätsabhängige Effekte zwar bei der tDCS von M1, wie von Nitsche und Paulus (2000, 2001) beschrieben, auftreten, jedoch nicht notwendigerweise bei der Stimulation anderer Areale, da die Effekte der tDCS von der Lage und Orientierung der Pyramidenzellen abhängen. Allerdings widersprechen dieser

Hypothese ebenfalls die beobachteten polaritätsspezifischen Effekte der anodalen und kathodalen tDCS zum Zeitpunkt t3.

Zusammenfassend kann auf der Basis der vorliegenden Daten der polaritätsunabhängige Effekt der tDCS auf die Reaktionszeiten zum Zeitpunkt t2 nicht erklärt werden. Die Daten stehen jedoch prinzipiell mit Ergebnissen vorausgehender Studien im Einklang, die keinen spezifischen Beitrag des PMC zur Akquisition einer motorischen Sequenz zeigen konnten.

3.2 Reduzierte Interferenzneigung nach kathodaler tDCS

Zum Zeitpunkt t3 zeigten die Versuchsteilnehmer/innen nach kathodaler Stimulation signifikant schnellere Reaktionszeiten in der sequentiellen im Vergleich zur randomisierten Bedingung. Dieser Befund steht mit der Annahme einer verringerten Interferenzneigung und damit einer Stabilisierung des gelernten Bewegungsmusters im Sinne einer Konsolidierung im Einklang. Das Ergebnis stützt somit die vermutete Bedeutung des PMC für die frühe Konsolidierung motorischer Sequenzen und weist darauf hin, dass der PMC auch in die schlafunabhängige Konsolidierung involviert sein könnte. Unerwartet ist jedoch, dass die Interferenzneigung durch die inhibitorische kathodale Stimulation verringert wurde. Folgt man der Annahme, dass die kathodale Stimulation inhibierend auf das Zielareal wirkt (Nitsche and Paulus, 2000, Pellicciari et al., 2013), deuten die vorliegenden Ergebnisse auf eine Förderung der frühen Konsolidierung durch eine verringerte Exzitabilität des PMC hin. Von dieser Beobachtung ausgehend, ließe sich vermuten, dass die Aktivität des PMC nachteilig für die frühe motorische Konsolidierung ist.

Effekte auf die Konsolidierung eines neu erlernten Bewegungsmusters durch die PMC-Stimulation konnten in vorausgegangenen Studien bereits gezeigt werden. Ausmaß und Richtung der Stimulationseffekte unterschieden sich jedoch zwischen den Studien (Kantak et al., 2012a, Meehan et al., 2013, Boyd and Lindsell, 2009, Nitsche et al., 2010). Kantak et al. (2012a) beobachteten eine abgeschwächte motorische Stabilisierung durch die anodale tDCS über dem dPMC während der Akquisition einer SRTT und Meehan et al. (2013) fanden gesteigerte Konsolidierungseffekte durch eine inhibitorische 1 Hz rTMS, wenn diese nach dem

Üben einer räumlichen Tracking-Aufgabe appliziert wurde. Beide Studien lassen somit – ähnlich wie die vorliegende Arbeit – eine nachteilige Bedeutung der PMC-Aktivität für die Konsolidierung vermuten. Im Gegensatz dazu, verzeichneten Boyd und Linsdell (2009) und Nitsche et al. (2010) verstärkte Konsolidierungseffekte durch die erhöhte Exzitabilität des PMC, was eine förderliche Rolle seiner Aktivität für die motorische Konsolidierung nahelegt. Boyd und Linsdell (2009) applizierten eine 5 Hz rTMS unmittelbar vor einer Tracking-Aufgabe, wohingegen Nitsche et al. (2010) die anodale tDCS nach der Akquisition einer SRTT während des REM-Schlafs verabreichte.

Da auch die neuronale Aktivität der Zielstruktur während der Stimulation die Stimulationseffekte beeinflussen könnte, müssen die unterschiedlichen Stimulationszeitpunkte in den zitierten Studien bei der Interpretation ihrer Ergebnisse berücksichtigt werden (Silvanto and Pascual-Leone, 2008). Dennoch zeigt sich keine einheitliche Tendenz, die einen bestimmten Stimulationszeitpunkt eindeutig mit einem positiven oder negativen Stimulationseffekt assoziiert, so dass der Zeitpunkt der Stimulation als alleinige Ursache der teilweise konträren Studienergebnisse unzureichend erscheint.

Hinweis auf konkurrierende Prozesse in M1 und PMC

Der M1 ist von besonderer Bedeutung für die Akquisition und die frühe Konsolidierung motorischer Sequenzen (Nitsche et al., 2003, Muellbacher et al., 2002, Karni et al., 1995, Wilkinson et al., 2010). Es wird vermutet, dass M1 als Repräsentationsort einzelner Bewegungen fungiert (Muellbacher et al., 2002). Eine kürzlich publizierte Arbeit von Yokoi et al. (2018) liefert keinen Hinweis für die Repräsentation von Bewegungssequenzen im M1. Als Repräsentationsort der Sequenz legen diese Daten vielmehr sekundäre motorische Areale – unter anderem den PMC – nahe (Yokoi et al., 2018). Wenn komplexe Bewegungsabläufe aus aufeinanderfolgenden, einzelnen Bewegungen bestehen, die in M1 repräsentiert sind (Muellbacher et al., 2002), deren Auswahl und Integration jedoch auf der Aktivierung des PMC beruht (Kantak et al., 2012b, Schluter et al., 1998, Yokoi et al., 2018), ist die Annahme plausibel, dass diese komplexen Bewegungsabläufe auf dem Zusammenspiel zwischen M1 und PMC basieren. Tatsächlich bestehen anatomische und funktionelle Verbindung

zwischen beiden Arealen (Chouinard and Paus, 2006). Es ist naheliegend, dass die Areale während des Lernens und der Konsolidierung einer komplexen Bewegung eng miteinander interagieren. In Einzelzelleableitungen während des Erlernens visuo-motorischer Assoziationen zeigte sich eine Aktivitätssteigerung im PMC von Primaten, die der Lernkurve mit kurzer Verzögerung folgte (Mitz et al., 1991). Die Autoren führen diese Aktivitätssteigerung auf die Auswahl der korrekten Bewegung durch den PMC zurück. Sie interpretierten die zeitliche Verzögerung zwischen der PMC-Aktivitätssteigerung und dem Anstieg der Lernkurve als Hinweis darauf, dass zunächst visuo-motorische Assoziationen etabliert worden sein müssen, bevor der PMC auf deren Basis Bewegungen auswählen kann (Mitz et al., 1991). Diese Interpretation steht im Einklang mit den Daten von Yokoi und Mitarbeitern (2018) und unterstützt die Annahme einer engen funktionellen M1-PMC Interaktion.

Die vorliegenden Daten weisen auf eine Konkurrenz zwischen M1 und dem PMC während der frühen motorischen Konsolidierung hin. M1 wird vor allem mit frühen Konsolidierungsprozessen innerhalb von einer bis sechs Stunden nach Ende der Akquisition in Verbindung gebracht (Brashers-Krug et al., 1996, Shadmehr and Brashers-Krug, 1997, Shadmehr and Holcomb, 1997). Eine verminderte Exzitabilität des PMC während dieses Zeitraums könnte, durch eine abgeschwächte Interferenz zwischen dem PMC und M1 die Verarbeitung einzelner Bewegungen durch M1 fördern. Die gleichzeitige Aktivität von M1 und PMC könnte neuronale Ressourcen binden, die dadurch nicht den frühen Konsolidierungsprozessen in M1 zur Verfügung stehen. Eine Reduktion der Exzitabilität des PMC durch die kathodale tDCS könnte zur Freigabe dieser Ressourcen führen und so indirekt die frühe Konsolidierung in M1 fördern.

Einfluss der PMC-Aktivität auf frühe und späte Konsolidierungsstadien

Die Förderung der frühen Konsolidierung durch die Reduktion der Exzitabilität des PMC scheint auf den ersten Blick im Widerspruch zu den Ergebnissen von Boyd und Linsdell (2009) und Nitsche et al. (2010) zu stehen, die eine verbesserte Konsolidierung durch eine erhöhte Exzitabilität des PMC beobachteten. Es sollte allerdings erwähnt werden, dass in der vorliegenden Arbeit und der von Boyd und Linsdell (2009) unterschiedliche Lern-Paradigmen genutzt wurden. Während Boyd

und Linsdell (2009) motorisches Lernen anhand einer Tracking-Aufgabe untersuchten, wurde in der vorliegenden Arbeit ein SRTT verwendet. Dieser Umstand muss bei dem Vergleich der Ergebnisse bedacht werden.

Weitere Unterschiede lassen sich im experimentellen Prozedere der Arbeiten finden. In der vorliegenden Arbeit wurde vor der Akquisition stimuliert und die Wiederabrufleistung unmittelbar nach dem Erlernen der Sequenz überprüft. Nitsche et al. (2010) stimulierten hingegen nach dem Lernen, während des REM-Schlafs, und überprüften die Wiederabrufleistung unmittelbar nach der Stimulation, jedoch erst vier Stunden nach der Akquisition. Beim Vergleich der vorliegenden Arbeit mit der Studie von Boyd und Linsdell (2009) ähneln sich zwar die Stimulationszeitpunkte, jedoch überprüften diese Autoren die Wiederabrufleistung bis zu 48 Stunden nach der Akquisition. Es ist nicht auszuschließen, dass die Abweichungen der Ergebnisse von Boyd und Linsdell (2009) und Nitsche et al. (2010) gegenüber den vorliegenden Daten auf die verschiedenen Zeitpunkte des Wiederabrufs zurückzuführen sind. In einer Übersichtsarbeit, die sich mit dem motorischen Lernen unter unterschiedlichen Übungs- und Feedbackbedingungen beschäftigte, zeigten Kantak und Winstein (2012), dass in 63 % der berücksichtigten Studien die frühe und späte Wiederabrufleistung nicht übereinstimmten. Teilweise zeigten sich sogar entgegengesetzte Tendenzen. Die Autoren vermuten, dass Lernprozesse in verschiedenen neuronalen Arealen, mit unterschiedlichen zeitlichen Verläufen, stattfinden. Die beteiligten Areale könnten zueinander in Konkurrenz um neuronale Ressourcen stehen. Aufgrund dieser Konkurrenz könnte die Aktivität eines für das jeweilige Konsolidierungsstadium nicht relevanten neuronalen Areals zu einer vorübergehend verschlechterten Wiederabrufleistungen führen. Das gleiche Areal könnte zu einem späteren Zeitpunkt jedoch von Bedeutung für einen anderen Prozess im Rahmen der Konsolidierung sein und so langfristig die Wiederabrufleistungen verbessern. Auf diese Weise könnte die motorische Konsolidierung zunächst von einer initial gesenkten Exzitabilität des PMC profitieren (wie in der vorliegenden Arbeit beobachtet), zu einem späteren Zeitpunkt könnte hingegen eine initial gesteigerte Exzitabilität zu verstärkten Konsolidierungseffekten führen (wie von Boyd und Linsdell (2009), sowie Nitsche et al. (2010) gezeigt).

Vor dem Hintergrund dieser Überlegung widersprechen die vorliegenden Ergebnisse nicht zwangsläufig denen von Boyd und Linsdell (2009) und Nitsche et al. (2010). Vielmehr deuten diese Unterschiede auf eine unterschiedliche Relevanz des PMC für frühe und späte Konsolidierungsstadien hin.

Diese Hypothese steht mit Daten von Cohen et al. (2005) im Einklang, die darauf hindeuten, dass sich eine motorische Fertigkeit aus mehreren Aspekten zusammensetzt, deren Konsolidierung in getrennten neuronalen Systemen zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattfindet. Cohen et al. (2005) unterschieden zwischen den motorischen und den räumlichen Aspekten einer SRTT und untersuchten deren jeweilige Verbesserungen im zeitlichen Verlauf. Sie beobachteten eine Verbesserung der motorischen Aspekte während der Konsolidierung im Wachzustand, wohingegen sich die räumlichen Aspekte während des Schlafs verbesserten (Cohen et al., 2005). Die Konsolidierung von Bewegungen scheint also kein uniformer Prozess zu sein, vielmehr scheint sie auf verschiedenen Mechanismen mit voneinander abweichenden zeitlichen Abläufen zu beruhen (Cohen et al., 2005).

Schlafabhängige versus schlafunabhängige Konsolidierung

Die Erkenntnisse von Cohen et al. (2005) betonen außerdem die Bedeutung von Schlaf für Konsolidierungsprozessen. Sowohl in den Arbeiten von Nitsche et al. (2010) und Boyd und Linsdell (2009) als auch bei Kantak et al. (2012a) und Meehan et al. (2013) lag wenigstens eine Schlafphase zwischen der Akquisition und der Überprüfung der Konsolidierungseffekte. Aus diesem Grund muss Schlaf als wichtiger Faktor für die Konsolidierung bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Studien und dem Vergleich mit den vorliegenden Daten berücksichtigt werden. Bei der Konsolidierung von Gedächtnisinhalten wird Schlaf eine zentrale Rolle zugesprochen (Maquet, 2001, Diekelmann and Born, 2010). Während des Schlafs scheinen die tagsüber gesammelten Gedächtnisinhalte reaktiviert und in das Netzwerk aus vorhandenen Informationen im Langzeitgedächtnis integriert zu werden (Wilson and McNaughton, 1994, Qin et al., 1997, Poe et al., 2000). Auch für die motorische Konsolidierung scheint Schlaf relevant zu sein. So konnte in Studien eine mit Schlaf assoziierte Verbesserung motorischer Aufgaben beobachtet werden (Walker et al., 2002, Fischer et al., 2002). Maquet et al. (2000)

zeigten die Reaktivierung von Kortex-Arealen, unter anderem des PMC, während des REM-Schlafs nach der Akquisition einer SRTT. Insbesondere die Ergebnisse von Nitsche et al. (2010) unterstützen die von Maquet et al. (2000) vermutete Relevanz des PMC für die schlafabhängige Konsolidierung, indem sie faszinierende Effekte der tDCS über dem PMC zeigen, wenn die Stimulation während des REM-Schlafs erfolgte.

Die vorliegende Studie konzentriert sich auf die Untersuchung früher schlafunabhängiger Konsolidierungsprozesse, weshalb keine direkte Aussage über spätere möglicherweise schlafabhängige Effekte gemacht werden kann. Die vorliegenden Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Aktivität des PMC auch Auswirkungen auf die frühere schlafunabhängige Konsolidierung hat. Tatsächlich beobachteten auch Nitsche et al. (2010) in einer Kontrollbedingung ihrer Studie, einen Effekt der PMC-tDCS auf die Konsolidierung im Wachzustand. Dieser Effekt zeigte sich in einer Stabilisierung der Bewegungssequenz, während die schlafabhängige Konsolidierung mit *offline improvement* einherging. Sowohl *offline improvement* als auch die verminderte Interferenzneigung als Ausdruck der Stabilisierung des Gelernten werden als Phänomene der motorischen Konsolidierung verstanden (Robertson et al., 2004a), die auf unterschiedlichen zentralen Prozessen basieren könnten. So scheint *offline improvement* in einem größeren Maß von Schlaf abhängig zu sein als die motorische Stabilisierung (Robertson et al., 2004a). Anders als in der vorliegenden Arbeit, wurden die schlafunabhängigen Konsolidierungseffekte bei Nitsche et al. (2010) nicht nach kathodaler tDCS des PMC, sondern nach anodaler Stimulation gezeigt. Somit weisen beide Arbeiten zwar grundsätzlich auf einen Einfluss der PMC-Aktivität auf die schlafunabhängige Konsolidierung hin, jedoch stehen die Ergebnisse von Nitsche et al. (2010) im Widerspruch zu der Vorstellung eines positiven Einflusses von reduzierter PMC-Exzitabilität auf die Interferenzneigung, wie die vorliegende Arbeit ihn vermuten lässt. Möglicherweise lassen sich die beschriebenen Abweichungen der Studienergebnisse auf die unterschiedlichen Zeitpunkte der Stimulation zurückführen. Während die tDCS in der vorliegenden Arbeit unmittelbar vor der Akquisition der motorischen Sequenz appliziert wurde, stimulierten Nitsche et al. (2010) in der Kontrollbedingung mit einem zeitlichen Abstand von etwa vier Stunden nach der Akquisition. Die Ergebnisse deuten

darauf hin, dass der PMC mehrere Stunden nach dem Ende der Akquisition an Bedeutung für die Konsolidierung gewinnt und somit eine Steigerung der PMC-Exzitabilität diesen Prozess faszilitiert. Diese Überlegung steht im Einklang mit bildgebenden Arbeiten, die einen Wechsel der Aktivitätsmaxima von präfrontalen Arealen zum PPC und PMC während des motorischen Lernens hindeuten (Shadmehr and Holcomb, 1997).

Zusammenfassend gibt es übereinstimmende Evidenz für die Annahme, dass eine verminderte Interferenzneigung als Ausdruck der Konsolidierung eines Bewegungsmusters schlafunabhängig auftritt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der von Nitsche und Mitarbeitern (2010) legt die Hypothese nahe, dass die funktionelle Bedeutung des PMC im Zeitverlauf variiert: Während in der frühen Phase der Konsolidierung eine reduzierte Exzitabilität diesen Prozess zu faszilitieren scheint, ist mehrere Stunden nach der Akquisition seine Zunahme förderlich.

3.3 Limitationen

Eine zentrale Limitation der vorliegenden Arbeit ist die fehlende Untersuchung der durch die tDCS induzierten neurophysiologischen Prozesse, wodurch die Interpretation der Ergebnisse erschwert ist. Es können weder über die Richtung (faszilitierend vs. inhibierend) noch über die exakte Lokalisation und Ausbreitung der Stimulationseffekte direkte Aussagen getroffen werden. Der Versuchsaufbau und die Interpretation der Ergebnisse der vorliegende Arbeit basieren auf der Annahme, dass die kathodale tDCS die kortikale Exzitabilität senkt (Nitsche and Paulus, 2000, Pellicciari et al., 2013) und die beobachteten Konsolidierungseffekte deshalb auf eine verminderte PMC-Aktivität zurückzuführen sind. Es ist aber zu betonen, dass diese polaritätsabhängigen Stimulationseffekte allein bei der Stimulation von M1 direkt untersucht worden sind (Nitsche and Paulus, 2000). Ob die Stimulation anderer Kortex-Areale vergleichbare Effekte auf die Exzitabilität hat, ist bislang unklar. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit hätten Daten zur Exzitabilität des PMC weitere Einblicke in die der tDCS zugrundeliegenden Mechanismen ermöglicht. Auch der in Kapitel 3.2 diskutierte denkbare Effekt der tDCS auf die funktionelle Interaktion der beteiligten kortikalen Areale hätte

hierdurch überprüft werden können und so ein differenzierteres Verständnis der den Ergebnissen zugrundeliegenden zentralen Prozesse erlangt werden können.

Ein weiteres Problem der Arbeit ist die relativ geringe Wiederholungsrate der zu erlernenden Sequenz. Diese wurde gewählt, um explizites Lernen ausschließen zu können. Als Konsequenz kam es zu vergleichsweise geringen Lerneffekten auch nach der Schein-Stimulation. Um verbleibende Zweifel daran auszuräumen, dass der fehlende Unterschied zwischen der sequentiellen und der randomisierten Bedingung nach anodaler und kathodaler tDCS auf einem unspezifischen Effekt auf die Reaktionszeiten beruht, hätte der Lerneffekt durch häufigere Wiederholung der Sequenz gesteigert werden können.

Der Begriff der Konsolidierung umfasst zwei unterschiedliche Phänomene – das *offline improvement*, und die Stabilisierung des Gelernten (Robertson et al., 2004a). In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich die Stabilisierung – in Form einer verringerten Interferenzneigung – als Indikator für eine erfolgreiche Konsolidierung untersucht. *Offline improvement* tritt als Verbesserung der erlernten Fertigkeit, zwischen zwei Übungseinheiten auf und scheint in größerem Maß schlafabhängig zu sein als die Stabilisierung (Robertson et al., 2004a). Um eine umfassende Abbildung der möglichen Bedeutung des PMC auf Konsolidierungsprozesse und eine bessere Vergleichbarkeit mit anderen Arbeiten – die das *offline improvement* als Parameter nutzen – zu gewährleisten, wäre es sinnvoll, Reaktionszeiten nach einer Schlafphase zu überprüfen. Diese Daten würden auch Informationen darüber liefern, ob beide Phänomene tatsächlich identische Prozesse abbilden. Ein differenzieller Effekt der tDCS würde auf unterschiedliche zentrale Prozesse und somit auf unterschiedliche Phänomene hindeuten.

Eine weitere Limitation ist die relativ geringe Stromstärke, die für die tDCS angewendet wurde. Um deutlichere Stimulationseffekte zu erzielen, hätte durch Erhöhung der Stromstärke die Stromdichte gesteigert werden können, die mit $0,028 \text{ mA/cm}^2$ am unteren Ende des üblichen Bereichs lag (Nitsche et al., 2008). Denkbar wäre, dass eine höhere Stromdichte mit stärkeren Verhaltenseffekten

assoziiert sein könnte. Einschränkend muss aber darauf hingewiesen werden, dass eine Erhöhung der verwendeten Stromstärke mit einer geringeren Fokalität der Stimulation einhergeht und eine Ko-Stimulation benachbarter und funktionell verbundener Areale wahrscheinlicher geworden wäre. Die Zuordnung der Verhaltenseffekte zu einem bestimmten Areal wäre hierdurch möglicherweise erschwert worden.

3.4 Ausblick

Daten von Cohen et al. (2005) legen nahe, dass räumliche und motorische Aspekte einer Bewegungssequenz zu unterschiedlichen Zeitpunkten konsolidiert werden. Die zugrundeliegenden Mechanismen scheinen dabei in unterschiedlichem Maße schlafabhängig zu sein (Cohen et al., 2005). Wenn diese Mechanismen in unterschiedlichen Gehirnarealen repräsentiert sind, wäre es vorstellbar, dass ihre Aktivität in Abhängigkeit vom Konsolidierungsstadium variiert. Kantak und Winstein (2012) stellten zudem fest, dass frühe und späte Wiederabrufleistungen voneinander abweichen können. Tatsächlich zeigen die vorliegende Studie mit einem frühen Zeitpunkt der Überprüfung des Konsolidierungseffekts und die Arbeit von Boyd und Linsdell (2009) mit einem späteren Überprüfungszeitpunkt – bei gleichem Stimulationszeitpunkt – unterschiedliche Ergebnisse.

Um eine möglicherweise differentielle Bedeutung des PMC für verschiedene Konsolidierungsstadien näher zu untersuchen, könnte es in zukünftigen Studien sinnvoll sein, den Stimulationszeitpunkt in getrennten Experimenten systematisch zu variieren, um so die Stimulationseffekte in unterschiedliche Konsolidierungsstadien fallen zu lassen. Außerdem sollten die Konsolidierungseffekte jeweils nach einer Wach- und nach einer Schlafphase überprüft werden.

Wie in Kapitel 3.3 geschildert, hätte die direkte Untersuchung der Interaktion verschiedener kortikaler Areale, sowie der durch tDCS induzierten kortikalen Exzitabilitätsveränderungen und ihrer Lokalisation, ein tieferes Verständnis der vorliegenden Ergebnisse ermöglichen können. Es erscheint daher sinnvoll, diese neurophysiologischen Prozesse in zukünftigen Experimenten gesondert zu

Überprüfen. Einschränkend ist zu erwähnen, dass eine direkte Prüfung der PMC-Exzitabilität nicht möglich ist. Die Elektroenzephalographie (EEG) ermöglicht jedoch Aussagen über die Aktivität kortikaler Areale und könnte daher eine sinnvolle Ergänzung des experimentellen Designs zukünftiger Studien darstellen.

Vorausgehende Arbeiten weisen auf eine gesteigerte PMC-Aktivität im Zusammenhang mit expliziten motorischen Lernprozessen hin (Grafton et al., 1995, Hazeltine et al., 1997, Honda et al., 1998). Diese Beobachtungen geben Grund zu der Annahme, dass der PMC relevant für das explizite Erlernen motorischer Fertigkeiten sein könnte. Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, dass explizite und implizite Konsolidierungsprozesse in Konkurrenz stehen (Poldrack and Packard, 2003, Brown and Robertson, 2007). Tatsächlich konnten Galea et al. (2010), durch Störung expliziter Lernprozesse mit Hilfe von inhibitorischer TMS des DLPFC, die implizite Konsolidierung einer motorischen Sequenz fasilitieren. Als Erklärungsmöglichkeit führten die Autoren eine Konkurrenz zwischen expliziten und impliziten Gedächtnissystemen um neuronale Ressourcen an, die möglicherweise durch die Stimulation zugunsten der impliziten Konsolidierung beeinflusst worden sei (Galea et al., 2010). Vor dem Hintergrund einer möglichen Beteiligung des PMC an expliziten Lernprozessen argumentierten Katak et al. (2012a) und Meehan et al. (2013), dass die von ihnen beobachteten Effekte der PMC-Stimulation auf die implizite Konsolidierung durch die Modulation expliziter Prozesse verursacht sein könnte. Es ist zwar spekulativ aber dennoch nicht auszuschließen, dass der positive Effekt der kathodalen PMC-tDCS auf die frühe implizite Konsolidierung, den die vorliegenden Daten zeigen, ebenfalls auf der Freigabe neuronaler Ressourcen durch Reduktion expliziter Lernprozesse beruht. Eine Schwachstelle dieser Hypothese ist allerdings, dass in den Studien von Katak et al. (2012a) und Meehan et al. (2013) – genau wie in der vorliegenden Arbeit – die Effekte der tDCS auf das explizite Lernen nicht direkt untersucht wurden. Daher erscheint es sinnvoll, in zukünftigen Experimenten auch explizite Lernprozesse und deren Einfluss auf die implizite motorische Konsolidierung gezielt zu untersuchen. Möglich wäre es zum Beispiel, in einer gesonderten Versuchsanordnung den Probanden/innen neben der impliziten sequentiellen Stimulus-Abfolge eine weitere explizite Sequenz zu präsentieren. Es

könnte anhand der so gewonnenen Daten überprüft werden, ob die induzierten expliziten und impliziten Lernprozesse miteinander interferieren und ob diese differenziell durch PMC-tDCS beeinflusst werden können.

3.5 Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit untersuchte den Effekt der tDCS über dem linken PMC auf die implizite Akquisition und die frühe, schlafunabhängige Konsolidierung einer Bewegungssequenz. Trotz der erörterten methodischen Einschränkungen erlauben die Daten folgende Schlussfolgerungen: Übereinstimmend mit vorausgehenden Studien zeigen die Ergebnisse keinen spezifischen Effekt der PMC-tDCS auf die Akquisition. Die Ergebnisse weisen über die zuvor beschriebene Beteiligung des PMC an der späten, schlafabhängigen Konsolidierung hinausgehend, auf eine Relevanz des PMC für frühe schlafunabhängige Konsolidierungsprozesse hin. Die Förderung der frühen Konsolidierung durch die Reduzierung der PMC-Exzitabilität liefert Anhalt für die Annahme konkurrierender Prozesse zwischen dem M1 und dem PMC während dieser Phase.

4. Literaturverzeichnis

- BATSIKADZE, G., MOLIADZE, V., PAULUS, W., KUO, M. F. & NITSCHKE, M. A. 2013. Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. *J Physiol*, 591, 1987-2000.
- BOROS, K., POREISZ, C., MUNCHAU, A., PAULUS, W. & NITSCHKE, M. A. 2008. Premotor transcranial direct current stimulation (tDCS) affects primary motor excitability in humans. *Eur J Neurosci*, 27, 1292-300.
- BOYD, L. A. & LINSDELL, M. A. 2009. Excitatory repetitive transcranial magnetic stimulation to left dorsal premotor cortex enhances motor consolidation of new skills. *BMC Neurosci*, 10, 72.
- BRASHERS-KRUG, T., SHADMEHR, R. & BIZZI, E. 1996. Consolidation in human motor memory. *Nature*, 382, 252-5.
- BROWN, R. M. & ROBERTSON, E. M. 2007. Off-line processing: reciprocal interactions between declarative and procedural memories. *J Neurosci*, 27, 10468-75.
- CHEN, R., CLASSEN, J., GERLOFF, C., CELNIK, P., WASSERMANN, E. M., HALLETT, M. & COHEN, L. G. 1997. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 48, 1398-403.
- CHOUINARD, P. A. & PAUS, T. 2006. The primary motor and premotor areas of the human cerebral cortex. *Neuroscientist*, 12, 143-52.
- COHEN, D. A., PASCUAL-LEONE, A., PRESS, D. Z. & ROBERTSON, E. M. 2005. Off-line learning of motor skill memory: a double dissociation of goal and movement. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 18237-41.
- COYNEL, D., MARRELEC, G., PERLBARG, V., PELEGRINI-ISSAC, M., VAN DE MOORTELE, P. F., UGURBIL, K., DOYON, J., BENALI, H. & LEHERICY, S. 2010. Dynamics of motor-related functional integration during motor sequence learning. *Neuroimage*, 49, 759-66.
- DIEKELMANN, S. & BORN, J. 2010. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*, 11, 114-26.
- DOYON, J., BELLEC, P., AMSEL, R., PENHUNE, V., MONCHI, O., CARRIER, J., LEHERICY, S. & BENALI, H. 2009. Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning. *Behav Brain Res*, 199, 61-75.
- FILMER, H. L., DUX, P. E. & MATTINGLEY, J. B. 2014. Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function. *Trends Neurosci*, 37, 742-53.
- FISCHER, S., HALLSCHMID, M., ELSNER, A. L. & BORN, J. 2002. Sleep forms memory for finger skills. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 11987-91.
- GALEA, J. M., ALBERT, N. B., DITYE, T. & MIALL, R. C. 2010. Disruption of the dorsolateral prefrontal cortex facilitates the consolidation of procedural skills. *J Cogn Neurosci*, 22, 1158-64.
- GALEA, J. M. & CELNIK, P. 2009. Brain polarization enhances the formation and retention of motor memories. *J Neurophysiol*, 102, 294-301.
- GHILARDI, M. F., MOISELLO, C., SILVESTRI, G., GHEZ, C. & KRAKAUER, J. W. 2009. Learning of a sequential motor skill comprises explicit and implicit components that consolidate differently. *J Neurophysiol*, 101, 2218-29.
- GIACOBBE, V., KREBS, H. I., VOLPE, B. T., PASCUAL-LEONE, A., RYKMAN, A., ZEIRATI, G., FREGNI, F., DIPIETRO, L., THICKBROOM, G. W. & EDWARDS, D. J. 2013. Transcranial direct current stimulation (tDCS) and robotic practice in chronic stroke: the dimension of timing. *NeuroRehabilitation*, 33, 49-56.

- GRAFTON, S. T., HAZELTINE, E. & IVRY, R. 1995. Functional mapping of sequence learning in normal humans. *J Cogn Neurosci*, 7, 497-510.
- HARDWICK, R. M., ROTTSCHY, C., MIAL, R. C. & EICKHOFF, S. B. 2013. A quantitative meta-analysis and review of motor learning in the human brain. *Neuroimage*, 67, 283-97.
- 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 Cogn*, 102, 1-12.
- HAZELTINE, E., GRAFTON, S. T. & IVRY, R. 1997. Attention and stimulus characteristics determine the locus of motor-sequence encoding. A PET study. *Brain*, 120 (Pt 1), 123-40.
- HIKOSAKA, O., NAKAMURA, K., SAKAI, K. & NAKAHARA, H. 2002. Central mechanisms of motor skill learning. *Curr Opin Neurobiol*, 12, 217-22.
- HIKOSAKA, O., SAKAI, K., MIYAUCHI, S., TAKINO, R., SASAKI, Y. & PUTZ, B. 1996. Activation of human presupplementary motor area in learning of sequential procedures: a functional MRI study. *J Neurophysiol*, 76, 617-21.
- 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 (Pt 11), 2159-73.
- HUMMEL, F. C., HEISE, K., CELNIK, P., FLOEL, A., GERLOFF, C. & COHEN, L. G. 2010. Facilitating skilled right hand motor function in older subjects by anodal polarization over the left primary motor cortex. *Neurobiol Aging*, 31, 2160-8.
- KANG, E. K. & PAIK, N. J. 2011. Effect of a tDCS electrode montage on implicit motor sequence learning in healthy subjects. *Exp Transl Stroke Med*, 3, 4.
- KANTAK, S. S., MUMMIDISSETTY, C. K. & STINEAR, J. W. 2012a. Primary motor and premotor cortex in implicit sequence learning--evidence for competition between implicit and explicit human motor memory systems. *Eur J Neurosci*, 36, 2710-5.
- KANTAK, S. S., STINEAR, J. W., BUCH, E. R. & COHEN, L. G. 2012b. Rewiring the brain: potential role of the premotor cortex in motor control, learning, and recovery of function following brain injury. *Neurorehabil Neural Repair*, 26, 282-92.
- KANTAK, S. S. & WINSTEIN, C. J. 2012. Learning-performance distinction and memory processes for motor skills: a focused review and perspective. *Behav Brain Res*, 228, 219-31.
- 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, 155-8.
- KARNI, A., MEYER, G., REY-HIPOLITO, C., JEZZARD, P., ADAMS, M. M., TURNER, R. & UNGERLEIDER, L. G. 1998. The acquisition of skilled motor performance: fast and slow experience-driven changes in primary motor cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 861-8.
- KARNI, A. & SAGI, D. 1993. The time course of learning a visual skill. *Nature*, 365, 250-2.
- LEHERICY, S., BENALI, H., VAN DE MOORTELE, P. F., PELEGRINI-ISSAC, M., WAECHTER, T., UGURBIL, K. & DOYON, J. 2005. Distinct basal ganglia territories are engaged in early and advanced motor sequence learning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 12566-71.

- LUFT, A. R. & BUITRAGO, M. M. 2005. Stages of motor skill learning. *Mol Neurobiol*, 32, 205-16.
- MAQUET, P. 2001. The role of sleep in learning and memory. *Science*, 294, 1048-52.
- MAQUET, P., LAUREYS, S., PEIGNEUX, P., FUCHS, S., PETIAU, C., PHILLIPS, C., AERTS, J., DEL FIORE, G., DEGUELDRE, C., MEULEMANS, T., LUXEN, A., FRANCK, G., VAN DER LINDEN, M., SMITH, C. & CLEEREMANS, A. 2000. Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat Neurosci*, 3, 831-6.
- MEEHAN, S. K., ZABUKOVEC, J. R., DAO, E., CHEUNG, K. L., LINSDELL, M. A. & BOYD, L. A. 2013. One hertz repetitive transcranial magnetic stimulation over dorsal premotor cortex enhances offline motor memory consolidation for sequence-specific implicit learning. *Eur J Neurosci*, 38, 3071-9.
- MITZ, A. R., GODSCHALK, M. & WISE, S. P. 1991. Learning-dependent neuronal activity in the premotor cortex: activity during the acquisition of conditional motor associations. *J Neurosci*, 11, 1855-72.
- MUELLBACHER, W., ZIEMANN, U., WISSEL, J., DANG, N., KOFLER, M., FACCHINI, S., BOROOJERDI, B., POEWE, W. & HALLETT, M. 2002. Early consolidation in human primary motor cortex. *Nature*, 415, 640-4.
- NAKAHARA, H., DOYA, K. & HIKOSAKA, O. 2001. Parallel cortico-basal ganglia mechanisms for acquisition and execution of visuomotor sequences - a computational approach. *J Cogn Neurosci*, 13, 626-47.
- NISSEN, M. J. & BULLEMER, P. 1987. Attentional requirements of learning: evidence from performance measures. *Cogn Psychol*, 19, 1-32.
- NITSCHKE, M. A., COHEN, L. G., WASSERMANN, E. M., PRIORI, A., LANG, N., ANTAL, A., PAULUS, W., HUMMEL, F., BOGGIO, P. S., FREGNI, F. & PASCUAL-LEONE, A. 2008. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul*, 1, 206-23.
- NITSCHKE, M. A., JAKOUBKOVA, M., THIRUGNANASAMBANDAM, N., SCHMALFUSS, L., HULLEMANN, S., SONKA, K., PAULUS, W., TRENKWALDER, C. & HAPPE, S. 2010. Contribution of the premotor cortex to consolidation of motor sequence learning in humans during sleep. *J Neurophysiol*, 104, 2603-14.
- NITSCHKE, M. A. & PAULUS, W. 2000. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol*, 527 Pt 3, 633-9.
- NITSCHKE, M. A. & PAULUS, W. 2001. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*, 57, 1899-901.
- NITSCHKE, M. A., SCHAUBENBURG, 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. *J Cogn Neurosci*, 15, 619-26.
- OHBAYASHI, M., OHKI, K. & MIYASHITA, Y. 2003. Conversion of working memory to motor sequence in the monkey premotor cortex. *Science*, 301, 233-236.
- PASCUAL-LEONE, A., VALLS-SOLE, J., WASSERMANN, E. M. & HALLETT, M. 1994. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain*, 117 (Pt 4), 847-58.
- PELLICCIARI, M. C., BRIGNANI, D. & MINIUSI, C. 2013. Excitability modulation of the motor system induced by transcranial direct current stimulation: a multimodal approach. *Neuroimage*, 83, 569-80.

- PENHUNE, V. B. & DOYON, J. 2002. Dynamic cortical and subcortical networks in learning and delayed recall of timed motor sequences. *J Neurosci*, 22, 1397-406.
- PENHUNE, V. B. & DOYON, J. 2005. Cerebellum and M1 interaction during early learning of timed motor sequences. *Neuroimage*, 26, 801-12.
- PENHUNE, V. B. & STEELE, C. J. 2012. Parallel contributions of cerebellar, striatal and M1 mechanisms to motor sequence learning. *Behav Brain Res*, 226, 579-91.
- POE, G. R., NITZ, D. A., MCNAUGHTON, B. L. & BARNES, C. A. 2000. Experience-dependent phase-reversal of hippocampal neuron firing during REM sleep. *Brain Res*, 855, 176-80.
- POLDRACK, R. A. & PACKARD, M. G. 2003. Competition among multiple memory systems: converging evidence from animal and human brain studies. *Neuropsychologia*, 41, 245-51.
- QIN, Y. L., MCNAUGHTON, B. L., SKAGGS, W. E. & BARNES, C. A. 1997. Memory reprocessing in corticocortical and hippocampocortical neuronal ensembles. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 352, 1525-33.
- REIS, J., ROBERTSON, E., KRAKAUER, J. W., ROTHWELL, J., MARSHALL, L., GERLOFF, C., WASSERMANN, E., PASCUAL-LEONE, A., HUMMEL, F., CELNIK, P. A., CLASSEN, J., FLOEL, A., ZIEMANN, U., PAULUS, W., SIEBNER, H. R., BORN, J. & COHEN, L. G. 2008. Consensus: "Can tDCS and TMS enhance motor learning and memory formation?". *Brain Stimul*, 1, 363-369.
- REIS, J., SCHAMBRA, H. M., COHEN, L. G., BUCH, E. R., FRITSCH, B., ZARAHN, E., CELNIK, P. A. & KRAKAUER, J. W. 2009. Noninvasive cortical stimulation enhances motor skill acquisition over multiple days through an effect on consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 1590-5.
- RIOULT-PEDOTTI, M. S., FRIEDMAN, D. & DONOGHUE, J. P. 2000. Learning-induced LTP in neocortex. *Science*, 290, 533-6.
- ROBERTSON, E. M., PASCUAL-LEONE, A. & MIALL, R. C. 2004a. Current concepts in procedural consolidation. *Nat Rev Neurosci*, 5, 576-82.
- ROBERTSON, E. M., PASCUAL-LEONE, A. & PRESS, D. Z. 2004b. Awareness modifies the skill-learning benefits of sleep. *Curr Biol*, 14, 208-212.
- RROJI, O., VAN KUYCK, K., NUTTIN, B. & WENDEROTH, N. 2015. Anodal tDCS over the Primary Motor Cortex Facilitates Long-Term Memory Formation Reflecting Use-Dependent Plasticity. *PLoS One*, 10, e0127270.
- SAKAI, K., HIKOSAKA, O., MIYAUCHI, S., TAKINO, R., SASAKI, Y. & PUTZ, B. 1998. Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuomotor sequence learning. *J Neurosci*, 18, 1827-40.
- SCHLUTER, N. D., RUSHWORTH, M. F., PASSINGHAM, R. E. & MILLS, K. R. 1998. Temporary interference in human lateral premotor cortex suggests dominance for the selection of movements. A study using transcranial magnetic stimulation. *Brain*, 121 (Pt 5), 785-99.
- SEIDLER, R. D., PURUSHOTHAM, A., KIM, S. G., UGURBIL, K., WILLINGHAM, D. & ASHE, J. 2005. Neural correlates of encoding and expression in implicit sequence learning. *Exp Brain Res*, 165, 114-24.
- SHADMEHR, R. & BRASHERS-KRUG, T. 1997. Functional stages in the formation of human long-term motor memory. *J Neurosci*, 17, 409-19.
- SHADMEHR, R. & HOLCOMB, H. H. 1997. Neural correlates of motor memory consolidation. *Science*, 277, 821-5.

- SILVANTO, J., MUGGLETON, N. G., COWEY, A. & WALSH, V. 2007a. Neural activation state determines behavioral susceptibility to modified theta burst transcranial magnetic stimulation. *Eur J Neurosci*, 26, 523-8.
- SILVANTO, J., MUGGLETON, N. G., COWEY, A. & WALSH, V. 2007b. Neural adaptation reveals state-dependent effects of transcranial magnetic stimulation. *Eur J Neurosci*, 25, 1874-81.
- SILVANTO, J. & PASCUAL-LEONE, A. 2008. State-dependency of transcranial magnetic stimulation. *Brain Topogr*, 21, 1-10.
- SONG, S., MARKS, B., HOWARD, J. H., JR. & HOWARD, D. V. 2009. Evidence for parallel explicit and implicit sequence learning systems in older adults. *Behav Brain Res*, 196, 328-32.
- SONG, S. B. 2009. Consciousness and the consolidation of motor learning. *Behav Brain Res*, 196, 180-186.
- STAGG, C. J. & NITSCHKE, M. A. 2011. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *Neuroscientist*, 17, 37-53.
- STEFAN, K., COHEN, L. G., DUQUE, J., MAZZOCCHIO, R., CELNIK, P., SAWAKI, L., UNGERLEIDER, L. & CLASSEN, J. 2005. Formation of a motor memory by action observation. *J Neurosci*, 25, 9339-46.
- TANJI, J. 1996. New concepts of the supplementary motor area. *Curr Opin Neurobiol*, 6, 782-7.
- TECCHIO, F., ZAPPASODI, F., ASSENZA, G., TOMBINI, M., VOLLARO, S., BARBATI, G. & ROSSINI, P. M. 2010. Anodal transcranial direct current stimulation enhances procedural consolidation. *J Neurophysiol*, 104, 1134-40.
- VIDONI, E. D. & BOYD, L. A. 2007. Achieving enlightenment: what do we know about the implicit learning system and its interaction with explicit knowledge? *J Neurol Phys Ther*, 31, 145-54.
- WALKER, M. P., BRAKEFIELD, T., MORGAN, A., HOBSON, J. A. & STICKGOLD, R. 2002. Practice with sleep makes perfect: sleep-dependent motor skill learning. *Neuron*, 35, 205-11.
- WILKINSON, L., TEO, J. T., OBESO, I., ROTHWELL, J. C. & JAHANSHAH, M. 2010. The contribution of primary motor cortex is essential for probabilistic implicit sequence learning: evidence from theta burst magnetic stimulation. *J Cogn Neurosci*, 22, 427-36.
- WILLINGHAM, D. B. 1998. A neuropsychological theory of motor skill learning. *Psychol Rev*, 105, 558-84.
- WILSON, M. A. & MCNAUGHTON, B. L. 1994. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science*, 265, 676-9.
- YOKOI, A., ARBUCKLE, S. A. & DIEDRICHSEN, J. 2018. The Role of Human Primary Motor Cortex in the Production of Skilled Finger Sequences. *J Neurosci*, 38, 1430-1442.
- ZIEMANN, U., ILIC, T. V., PAULI, C., MEINTZSCHEL, F. & RUGE, D. 2004. Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J Neurosci*, 24, 1666-72.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Alfons Schnitzler danke ich für die Möglichkeit im Institut für Klinische Neurowissenschaften und Medizinische Psychologie diese Arbeit anfertigen zu dürfen.

Frau Prof. Dr. Bettina Pollok möchte ich sehr herzlich für die engagierte und geduldige Betreuung meiner Arbeit danken. Ihre Impulse und konstruktiven Anmerkungen waren für mich stets ein wichtiger Leitfaden bei der Anfertigung dieser Arbeit. Frau Prof. Dr. Polloks offene, interessierte Art und ihre Fähigkeit auch komplexes Fachwissen und Methodik anschaulich zu vermitteln, hat die Zusammenarbeit mit ihr zu einer besonders positiven und prägenden Erfahrung meines Studiums gemacht.

Frau Dr. Vanessa Krause und Frau Dr. Ariane Keitel gilt mein Dank für ihre Unterstützung und die Ratschläge, mit denen sie mir in allen Phasen der Arbeit zur Seite standen.

Frau Sylvia Kemmet möchte ich für die freundschaftliche Zusammenarbeit und den konstruktiven Austausch danken.

Allen Mitarbeitern/innen des Instituts für Klinische Neurowissenschaften und Medizinische Psychologie danke ich für die herzliche Aufnahme in das Team, die freundschaftlich-kollegiale Zusammenarbeit und die anhaltende Hilfsbereitschaft.

Auch möchte ich den Versuchsteilnehmern/innen danken, ohne die diese Arbeit nicht realisierbar gewesen wäre.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt mein ganz besonders herzlicher Dank für ihre Unterstützung und das fortwährende Interesse an meiner Arbeit.