

DE EFFECTEN VAN PSYCHOSOCIALE STRESS OP DE FUNCTIONELE CONNECTIVITEIT IN HET BREIN

Semay Arthur

Studentennummer: 01804102

Promotor(en): Prof. dr. Marie-Anne Vanderhasselt, ir. Gert Vanhollebeke

Masterproef voorgelegd in kader van het behalen van de graad Master in de Geneeskunde


Academiejaar: 2021 – 2023

"De auteur en de promotor geven de toelating dit afstudeerwerk voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting uitdrukkelijk de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit dit afstudeerwerk."

Datum: 11/08/2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Arthur Semay', with a stylized, elongated flourish extending to the right.

(student) Arthur Semay

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Gert Vanhollebeke', with a large, looped initial 'G' and a horizontal line across the top.

(promotor) Gert Vanhollebeke

Inhoudsopgave

ABSTRACT	1
1. INTRODUCTIE	2
1.1. Achtergrond	2
1.2. Onderzoek, Intenties en Doelstellingen	5
1.3. Onderzoeksvraag en Hypothesen	6
2. MATERIALEN EN METHODEN	8
2.1. Participanten Rekrutering	8
2.2. Onderzoeksprotocol	9
2.3. Cyberball	11
2.4. MIST	12
2.5. EEG Datapreparatie	14
2.6. Statistische Analyse	15
3. RESULTATEN	17
3.1. VAS Vragenlijst	17
3.1.1. Cronbach's Alpha	17
3.1.2. Vragenlijst	17
3.2. EEG Functionele Connectiviteit	19
3.3. EEG Power	20
4. DISCUSSIE	21
4.1. VAS Vragenlijst	22
4.1.1. Effectgroottes en Standaarddeviaties	22
4.1.2. Controle-Stress	22
4.1.3. Algemene verschillen Cyberball-MIST	23
4.2. EEG Functionele Connectiviteit/Power	24
4.2.1. Algemene Resultaten	24
4.2.2. Complexiteit en Limitaties van EEG onderzoek	26
4.2.3. Linker Anterieure Insula	28
5. CONCLUSIE	30
Referenties	31

ABSTRACT

Met de opkomst en stijgende aandacht voor mentale gezondheidsproblemen is psychosociale stress als belangrijke katalysator voor psychopathologie aangetoond. Het brein is verantwoordelijk voor het genereren van de stressrespons en diens gevolgen en vormt een link tussen stress en ziekte waarvoor alsnog een pathogenese ontbreekt. Functionele breinnetwerken representeren voor psychopathologie in bijzonder een belangrijk onderzoeksonderwerp, gezien deze vanuit de gefixeerde anatomische structuur van het brein complexe reacties bewerkstelligen die de basis vormen voor emoties, cognitie en gedrag.

De voornaamste breinregio's betrokken bij de psychosociale stressrespons, zijnde de anterieure insula, de inferieure frontale gyrus en de precuneus, werden met EEG onderzocht op onderlinge connectiviteitsveranderingen in de Alfa -en Bètafrequentie, waarbij het Cyberball -en MIST paradigma werden gebruikt om psychosociale stress te induceren. Onze resultaten tonen aan dat ondanks een effect van de paradigma's op de emoties en stresservaring van proefpersonen, er geen significante connectiviteitsveranderingen tussen de controle -en stressconditie gevonden konden worden; slechts twee observaties benaderden het significantieniveau, beiden bedroegen connectieveranderingen in de anterieure insula van de linker hemisfeer.

Met betrekking tot deze uitkomsten kon weinig conclusief afgeleid worden aangaande de vraag of psychosociale stress leidt tot een algemene connectiviteitsverandering tussen diens betrokken breinregio's. Ons resultaat benadrukt nogmaals de complexiteit van breinonderzoek en de uitdagingen voor EEG als veelbelovende beeldvormingstechniek om binnen dit domein statistisch significante resultaten te bekomen, gezien de subtiliteit van diens uitkomsten.

1. INTRODUCTIE

1.1. Achtergrond

Mentale gezondheidsproblemen zijn wereldwijd zeer prevalent; geestelijke gezondheidsenquêtes van de World Health Organization tonen aan dat in een groot aandeel landen een derde van de respondenten in hun leven ooit een mentale stoornis heeft gehad. De interkwartielwaarde (IQR, het 25^{ste} – 75^{ste} percentiel) van deze vragenlijsten bedroeg voor een life-time prevalentie van een mentale stoornis 18.1-36.1% over het geheel van de landen dat bestudeerd werd (1).

Angststoornissen en depressie zijn de meest voorkomende mentale gezondheidsproblemen (2,3) en het aantal incidentgevallen van depressie is tussen 1990 en 2017 met 49,86% gestegen (3). In 2020 werd bij een questionnaire tijdens de COVID-19 periode in de Verenigde Staten een 3-voudige toename van depressieve symptomen vastgesteld (4), wat nogmaals duidt op de relevantie en omvang van het probleem. Door het grote aantal mensen dat lijdt aan depressie, het feit dat de ziekte zich manifesteert in verschillende deelaspecten van het leven en restsymptomen vaak meerdere jaren aanhouden, zorgt depressie momenteel voor meer verloren levensjaren door ziekte wereldwijd dan elke andere ziekte (5,6).

Mentale gezondheidsproblemen kennen een multifactoriële etiologie, waarbinnen stress ongetwijfeld een substantiële invloed uitoefent. Ongunstige, stressvolle levensgebeurtenissen vormen faciliterende elementen voor psychopathologie later in het volwassen leven, waarbij stress een drijfveer is voor depressie en een neurobiologische wisselwerking deelt met angststoornissen (7–9). Stress in deze context kan gedefinieerd worden als een gespannen toestand die het gevolg is van een stimulus welke zowel psychologische als fysiologische reacties bewerkstelligt. De stimulus die een stressreactie uitlokt, ook wel stressor genoemd, roept deze respons op wanneer de betrokkene niet de mogelijkheden heeft er adequaat op te reageren (10,11). De stressrespons kan hierbij worden opgedeeld in 3 fasen die verschillen in hun psychologische en fysiologische mechanismen, wanneer deze op verschillende tijdstippen doorheen de stressrespons gekozen worden. Zo kan er onderscheid gemaakt worden tussen een anticipatorische-, reactieve- en recovery fase (12).

Stress is een veelomvattend begrip dat verschillende uiteenlopende types stressoren dekt, welke voortkomen uit interacties tussen het individu en zijn omgeving (11). Een belangrijk soort stress dat bij het ontstaan van (mentale) gezondheidsproblemen een grote rol speelt is psychosociale stress. Stressoren van dit type ontstaan uit sociale interacties tussen individuen en zijn zeer impactvol gezien deze fundamentele psychologische behoeften verstoren, zoals

het behoud van de eigen sociale identiteit en de nood om zich aangesloten te voelen bij anderen (13). Bovendien is de waarschijnlijkheid om aan psychosociale stressoren blootgesteld te worden groter in vergelijking met andere types, gezien sociale interacties intrinsiek zijn aan het dagelijks leven (12,14,15). Scenario's zoals hoge eisen op het werk gecombineerd met een lage discretionaire bevoegdheid en een disbalans tussen inspanning en waardering zijn voorbeelden van prestatie gerelateerde situaties met goal-georiënteerde uitvoering en bestaan naast sociale evaluaties en sociale exclusie als psychosociale stressoren die reeds sterk in verband gebracht worden met het voorkomen van mentale gezondheidsstoornissen zoals depressie (16,17).

Biologisch gezien speelt het brein een grote rol bij de stressrespons; het antwoord op stressoren wordt getriggerd en verwerkt door het zogeheten stresssysteem, welke een diversiteit aan hersenstructuren omvat die tezamen in staat is de respons te genereren die zowel de psychologische als fysiologische veranderingen in het organisme bewerkstelligt (18). De opklaring van de manier waarop het brein hiervoor structuren activeert alsook de identificatie van de neuronale circuits die hierin deelnemen lijken cruciaal om verder inzicht te verwerven in deze reacties en hun implicaties op de mentale gezondheid.

Aan de hand van *neuroimaging* technieken zoals *functional magnetic resonance imaging* (fMRI) en het elektro-encefalogram (EEG) is het mogelijk geworden om de verwerking van stress in het menselijke brein in real-time te bestuderen. Hiertoe zijn verschillende paradigma's ontwikkeld die binnen een onderzoeksomgeving stress kunnen induceren en dit heeft geleid tot de identificatie van verschillende regio's die betrokken zijn bij de stressrespons. De invloed van psychosociale stress op het brein werd bij Berretz et al. (19) onderzocht in een meta-analyse van fMRI studies die verschillende paradigma's toepasten en toonde activatie van de insula, het claustrum en de inferieure frontale gyrus in beide hemisferen wanneer alle paradigma's werden samengenomen. De activatiepatronen varieerden echter in zekere mate tussen de gebruikte paradigma's en het Cyberball paradigma (20) in bijzonder presenteerde zich als een uitschieter in de analyse. Cyberball is het frequentst gebruikte paradigma om sociale exclusie te onderzoeken (21) en wanneer deze uit de analyse gelaten werd, werden 3 additionele clusters van activatie in het brein gevonden. Bovendien vond men dat Cyberball daarnaast aanzienlijke activatie vertoont in motorisch-gerelateerde hersenregio's. Dit alles geeft aan dat Cyberball andere regio's aanspreekt en sommige regio's niet activeert die bij andere paradigma's wel geactiveerd werden. Desgelijks werd voor de *Montreal Imaging Stress Task* of MIST (een paradigma om de effecten van sociale evaluatie te onderzoeken) (22) uitgesproken activatie van de gyrus angularis gevonden.

Zoals Berretz et al. heeft aangetoond spelen verschillende regio's in het brein een rol bij de respons op psychosociale stress, deze regio's functioneren echter niet geïsoleerd maar wel georganiseerd, in netwerken van dynamische interacties (23,24). Deze interacties tussen breinregio's worden omvat onder de term functionele connectiviteit, welke temporele afhankelijkheden tussen tijdseries van anatomisch gescheiden regio's beschrijft (25). Het onderzoeken van functioneel geconnecteerde breinnetwerken vormt een cruciaal onderdeel in het vormen van een pathofysiologie voor mentale gezondheidsproblemen, gezien deze netwerken fundamentele organisatorische elementen in het brein vertegenwoordigen die een breed repertoire aan functies halen uit een anatomisch beperkte structuur. Het is deze laatste eigenschap welke noodzakelijk is voor het kunnen bewerkstelligen van hogere cerebrale functies zoals het ophalen van herinneringen, het vormen van redeneringen en motivatie, en het beleven van emoties en gemoedstoestanden (26).

Om de functionele connectiviteit tussen breinregio's te onderzoeken werd vooralsnog voornamelijk fMRI gebruikt als beeldvormingstechniek, gezien deze over een uitstekende spatiale resolutie beschikt (de mate waarin een techniek kan bepalen vanuit welke plek in het brein een gemeten signaal afkomstig is (27)). Het ruimtelijk oplossend vermogen van EEG is daarentegen in vergelijking eerder zwak, waardoor EEG niet vaak werd weerhouden voor onderzoek naar functionele breinnetwerken. Meer recent zijn echter verschillende methoden ontwikkeld om de spatiale resolutie van EEG significant te verbeteren, zoals het gebruik van *source imaging* of bronlokalisatie, welke berust op mathematische algoritmen om vanuit de oppervlaktespanningen, gemeten door de EEG-elektroden op de hoofdhuid, de oorsprong van de signalen te bepalen en aldus een schatting te geven van de onderliggende bronregio's (28–31). EEG heeft als onderzoekstechniek het voordeel te beschikken over een uitzonderlijke temporele resolutie in de rangorde van milliseconden, wat deze van fMRI significant overtreft, gezien het typische fMRI protocol een opnameduur van 2-3 seconden per scan vereist en diens temporele resolutie daarenboven inherent gelimiteerd wordt door de snelheid van een hemodynamische respons (28,32,33). De temporele resolutie is een maat voor de frequentie waarmee een sensor metingen kan uitvoeren en bepaalt aldus de nauwkeurigheid in tijd waarmee veranderingen kunnen waargenomen worden. Gezien de cel assemblages betrokken bij de stressrespons zich afspelen in de subseconde tijdschaal lijkt EEG een beslist voordeel te hebben om de temporale dynamiek van deze processen op een correcte manier te representeren (34). Middels EEG-spectraalanalyse kan de neuronale communicatie immers opgesplitst worden in afzonderlijke frequentiebanden, wat de mogelijkheid inhoudt om te onderzoeken of breinnetwerken beschikken over unieke frequentiesignaturen met verschillende functionele rollen (35). Het vermogen van EEG om de neurale correlaten van psychosociale stress te onderzoeken in de tijdspanne waarin deze processen zich voordoen

en de introductie van methodieken bedoeld om de spatiale resolutie significant verbeteren maken van EEG een veelbelovende beeldvormingstechniek voor het onderzoeken van functionele breinnetwerken.

Tot dusver is voor EEG onderzoek het analyseren van functionele connectiviteitsveranderingen als methode om de invloed van psychosociale stress in het brein te bestuderen amper gebruikt in vergelijking met andere spectraalanalyse methoden en de voorlopige resultaten van de connectiviteitsveranderingen zijn veelal insignificant of moeten met voorzichtigheid benaderd worden (12). Er bestaan echter verschillende manieren om functionele connectiviteit te meten en het is van belang dat de keuze van de meeteenheid optimaal is om de breinfunctie alteraties gerelateerd aan psychosociale stress bloot te leggen. Thans is er nog geen consensus over welke meeteenheid de communicatie tussen de breinregio's het best representeert (12,36,37) maar de meest consistente methoden werden bij een onderzoek van Colclough et al. (38) beschreven als zijnde de *amplitude envelope correlation* en *partial correlation*. Deze resultaten dienen echter met voorzichtigheid geïnterpreteerd te worden gezien de verschillende meeteenheden specifieke aspecten van de signalen analyseren en de keuze van de meeteenheid hoofdzakelijk afhangt van de dimensies en het soort activiteit die men tracht te onderzoeken (37). Het is eveneens belangrijk te vermelden dat vooralsnog het gebruik van bronlokalisatie algoritmen voor zover wij weten nog niet eerder is toegepast ten aanzien van het onderzoek naar connectiviteitsveranderingen bij psychosociale stress.

1.2. Onderzoek, Intenties en Doelstellingen

In het komend onderzoek worden de effecten van psychosociale stress op de functionele connectiviteit in het brein onderzocht. De voornaamste breinregio's die betrokken zijn bij de respons op een psychosociale stressor en frequent geobserveerd worden in fMRI onderzoek, zijnde de anterieure insula, inferieure frontale gyrus en precuneus (19,39), zullen hiertoe met EEG in beide hemisferen bestudeerd worden. Om te onderzoeken of deze regio's over verschillende frequentiesignaturen beschikken worden de connectiviteitsveranderingen bestudeerd in 2 frequentiebanden. In dit onderzoek werd gekozen om Alfa en Bèta te analyseren, gezien voor deze momenteel de grootste bron van literatuur bestaat (12). Van deze frequenties wordt vermoed dat zij respectievelijk instaan voor een inhibitorisch controlesysteem dat taak-irrelevante breinregio's onderdrukt en een cognitief verwerkingssignaal dat het behoud van de cognitieve status weerspiegelt (40,41). Om de resultaten van de functionele connectiviteitsveranderingen potentieel te ondersteunen en meer

context te kunnen bieden over de veranderingen in het activiteitspatroon van het brein werden uit de EEG-data voor Alfa en Bèta bijkomend relatieve powermetingen voor de onderzochte regio's afgeleid, welke gezien kunnen worden als maat voor de relatieve neuronale activiteit binnen desbetreffende frequenties (12,42).

In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van *amplitude envelope correlation* om de functionele connectiviteit tussen de regio's te meten en voor het eerst werd bronlokalisatie toegepast, wat toelaat om de oorsprong van de EEG-activiteit te bepalen en de hierboven vermelde regio's te isoleren voor analyse. Om psychosociale stress te induceren binnen de onderzoeksomgeving wordt gebruik gemaakt van twee verschillende paradigma's, zijnde het Cyberball paradigma (20) en de MIST (22). Hoewel beide paradigma's er in slagen bij de participant psychosociale stress te induceren binnen een onderzoeksomgeving (22,43) is het belangrijk zich te vergewissen van het feit dat Cyberball en MIST twee verschillende dimensies van psychosociale stress aanspreken (sociale exclusie en sociale evaluatie respectievelijk) en dat deze kunnen leiden tot distinctieve, specifieke effecten in het brein, zoals werd aangetoond bij Berretz et al. (19). Hoewel het onderzoeken van de verschillen tussen beide paradigma's kan leiden tot interessante inzichten voor het begrijpen van de psychosociale stressrespons, ligt de focus van dit onderzoek op de gemeenschappelijke effecten van Cyberball en MIST. Dit om paradigma-specifieke resultaten te voorkomen en te onderzoeken wat de gegeneraliseerde respons is op psychosociale stress, ongeacht het gebruikte paradigma.

1.3. Onderzoeksvraag en Hypothesen

De link tussen psychosociale stress en mentale gezondheidsproblemen is reeds gedocumenteerd en bewezen maar er ontbreekt alsnog een pathofysiologie om de neurobiologische fundamenteën van deze link volledig bloot te leggen en de exacte invloed die psychosociale stress heeft op de activiteit in het brein uiteen te zetten. De opklaring van de manier hoe stress in het brein verwerkt wordt kan echter een belangrijk inzicht geven in de psychologische en fysiologische responsen die stress met zich teweegbrengt en hun implicaties op de mentale gezondheid. Functionele breinnetwerken vormen hierin een belangrijk onderzoeksonderwerp gezien deze dynamiek representeren op een anderszins statische structurele connectiviteit en ten grondslag liggen aan cognitie en gedrag (26).

De hoofdvraag die zal geprobeerd beantwoord te worden in het huidig onderzoek is wat de gemeenschappelijke effecten zijn van de psychosociale stress uitgelokt door de MIST en Cyberball paradigma's op de functionele connectiviteit in het brein. Hiertoe zullen de anterieure insula, inferieure frontale gyrus en precuneus in zowel de Alfa -als Bètafrequentie onderzocht worden.

Het is onze hypothese dat de connectie tussen de prefrontale cortex en de anterieure insula zal versterken in de bèta frequentieband. Verder wordt verwacht dat de activiteit in de precuneus en inferieure frontale gyrus zal toenemen, maar het is nog onbekend hoe deze zich zullen uiten in de connectiviteitsveranderingen.

2. MATERIALEN EN METHODEN

Participanten nemen voor dit onderzoek deel op twee verschillende tijdstippen. De eerste keer nemen ze deel aan het Cyberball paradigma en de tweede keer zullen ze deelnemen aan de MIST. Beide keren zullen participanten een taak uitvoeren; bij Cyberball bestaat deze uit een bal ontvangen en werpen naar deelnemers op de computer en bij MIST bestaat deze uit het oplossen van reeksen rekenoefeningen. Deze taken worden hun opgelegd in zowel een normale (controle) conditie als een experimentele (stress) conditie. Participanten dragen gedurende hun deelname tijdens het volledige onderzoek een EEG-cap met 128 elektroden; het EEG-apparaat dat gebruikt werd om de data te verzamelen is een EGI GES 400 (EGI, Eugene, OR, USA) en via het computerprogramma OpenSesame (44) werden de Cyberball en MIST paradigma's gepresenteerd. Wanneer participanten de twee deelnames voltooid hebben, hebben we zodoende per individu de EEG-geregistreerde gegevens van beide taken tijdens zowel een controle -als stressconditie. Tussen beide deelnamen zit minstens 1 week om eventuele effecten van gewenning te vermijden.

2.1. Participanten Rekrutering

Een populatie van 73 volwassenen tussen de leeftijd van 20 en 44 jaar en zonder voorgeschiedenis van een psychiatrische stoornis werden gerekruteerd via sociale media. Hiertoe vulden zij online vragenlijsten in, die onder meer werden gebruikt om individuen te excluderen van het onderzoek die tekenen van depressie zouden vertonen en mogelijks afwijkende resultaten zouden opbrengen (35,45) (om een lijst met de exclusiecriteria te bezichtigen, zie <https://osf.io/ap4w2>). De digitale vragenlijsten werden ontwikkeld met behulp van de openbaar beschikbare enquêtessoftware LimeSurvey. Alle 73 individuen namen deel aan het Cyberball paradigma en 66 namen deel aan het MIST paradigma. Op basis van de kwaliteit van de EEG-data werden achteraf nog participanten geëxcludeerd, zodat uiteindelijk 63 personen (waarvan 13 mannen en 50 vrouwen, gem leeftijd: 21.44 +/- 2.9j) voor Cyberball werden weerhouden en 53 personen (waarvan 9 mannen en 44 vrouwen, gem leeftijd: 21.49 +/- 2.95j) voor MIST. Ethische goedkeuring voor het uitvoeren van de studie werd verkregen door het ethisch comité van de Universiteit van Gent en participanten gaven zowel vooraf (online), als in persoon bij de start van de eerste deelname hun geschreven geïnformeerde goedkeuring.

2.2. Onderzoeksprotocol

Vooraleer participanten in het onderzoek worden blootgesteld aan een stimulus wordt voor ieder individu een baseline afgenomen; tijdens deze fase wordt EEG-activiteit gemeten over een tijdsperiode van 5 minuten met gesloten ogen en daaropvolgend 5 minuten met de ogen geopend. Dit om per individu de *resting state* activiteit van het brein te meten en het effect te kunnen reduceren van driften in EEG-signalen door bronnen ongerelateerd aan het onderzoek (46). De manier waarop dit laatste gebeurt wordt in sectie 2.5. besproken.

We laten de participant nadien, zowel bij Cyberball als MIST, eerst de geassocieerde taak uitvoeren zonder het induceren van psychosociale stress (de controlefase). Bij Cyberball is dit de inclusiefase, waarin de 2 digitale deelnemers de bal nog regelmatig aangeven. Bij MIST wordt tijdens de controlefase nog geen tijdslimiet en sociaal-evaluatieve druk opgelegd bovenop de rekenoefeningen. Na de controlefase wordt een rustfase ingelast waarin de recovery van de voorgaande fase gemeten wordt, in dit geval de controlefase (zie Fig. 1). De rustfase bestaat zoals de baseline uit een tijdsblok van 5 minuten met de ogen gesloten gevolgd door een tijdsblok van 5 minuten met de ogen geopend. Tijdens de rustfasen van het onderzoek wordt zoals bij de baseline gecorrigeerd voor storende signalen, zodat de volgende fase betrouwbaar geanalyseerd zou kunnen worden.

Tijdens de experimentele (stress) fase voeren participanten dezelfde taak als voordien uit maar met toevoeging van een psychosociale stressor. Bij Cyberball is dit de exclusiefase, waarin de participant uitgesloten wordt en hij of zij de bal ontvangt in slechts een beperkt aantal van de worpen door de andere spelers. Bij MIST is dit wanneer een tijdslimiet en sociaal-evaluatieve druk worden opgelegd bovenop de rekenoefeningen. Dit is de reactieve fase van het onderzoek, waarin participanten rechtstreeks blootgesteld en actief betrokken zijn met de psychosociale stressor. Nadien wordt een tweede rust ingelast die de recovery van de stressfase meet, ofwel de recovery fase van de stressrespons; deze bestaat hoofdzakelijk uit de mogelijke omkering van de fysiologische en psychologische alteraties die door de stressor werden aangebracht (12). Merk op dat gezien patiënten tijdens hun deelname niet op de hoogte worden gesteld van de opkomende stressor en zij zich dusdanig niet bewust zijn van de aankomende blootstelling, de anticipatorische fase van de stressrespons (waarin een individu zich bewust wordt van een komende stressor maar er nog niet direct aan wordt blootgesteld) in dit onderzoek ontbreekt en niet onderzocht kan worden.

Om de resultaten van de volgende deelname niet te beïnvloeden worden de participanten na het doorbrengen van het Cyberball paradigma nog niet ingelicht over het werkelijke doel van het onderzoek.

Tijdens hun deelname worden de participanten meermaals getoetst met een vragenlijst waarvoor zij hun antwoorden op een *visual analogue scale* (VAS) dienen aan te geven (47). De vragenlijst bestaat uit 19 vragen die peilen naar de emoties van de proefpersoon; er worden 3 gevoelsdomeinen (*Negative Affect* (NA), *Positive Activating* (PA) en *Positive Soothing* (PS)) bevraagd, waarbij voor elk domein 6 vragen worden gesteld. Hiernaast wordt participanten gevraagd in welke mate zij stress ervaren. De mate waarin participanten op de VAS aangeven zich te vinden in de bevraagde emotie wordt bepaald door het aantal millimeter tussen de plek die zij op de schaal aanduiden en de minimumscore en wordt achteraf omgezet naar een kwantitatieve score op 100. Deze vragenlijst wordt tijdens elke deelname 5 verschillende keren afgenomen: eenmaal na de baseline, eenmaal na de controlefase, eenmaal na de eerste rustfase, eenmaal na de stressfase en eenmaal na de tweede rustfase (zie Fig. 1). Op deze manier kunnen de resultaten van de vragenlijst beoordeeld worden om, net zoals voor de EEG-data, conclusies te trekken met betrekking tot zowel de reactieve -als recoveryfase van de stressrespons.

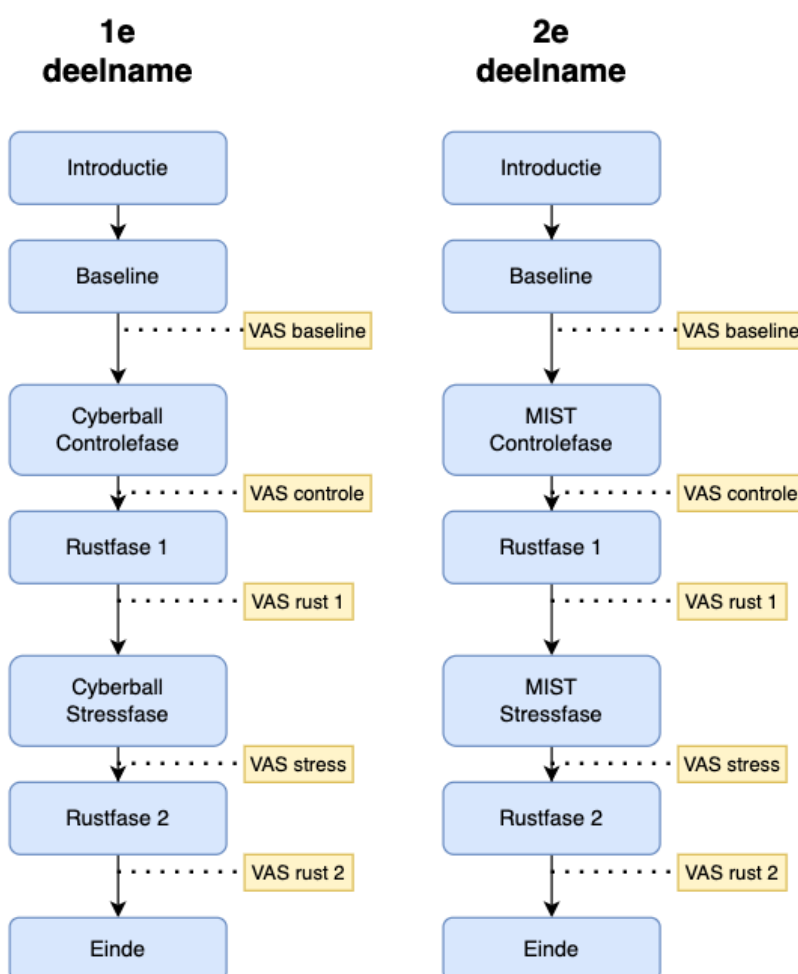


Fig 1. Visualisatie van het onderzoeksprotocol.

2.3. Cyberball

Bij de eerste deelname, wanneer participanten het Cyberball spel moeten spelen, wordt hun verteld dat ze een online balspel gaan spelen op de computer met 2 andere deelnemers. De participant ziet deze 2 deelnemers niet in het echt maar zij worden op het computerscherm voorgesteld door een zwart-wit foto van hunzelf. De participant wordt op dezelfde wijze voorgesteld door zijn eigen zwart-wit foto op het computerscherm, deze foto heeft hij of zij voordien aan de onderzoekers bezorgd na overeenkomst om aan het onderzoek deel te nemen. Het balspel is gemaakt om er uit te zien als een online spel en de 2 andere deelnemers stellen participanten voor die op hun eigen computer vanuit een andere plek meespelen. Deze online deelnemers zouden naar verluidt ook participanten van hetzelfde onderzoek zijn en dezelfde instructies als de proefpersoon meekrijgen, met name dat ze zichzelf en de andere spelers mentaal moeten visualiseren alsof ze de bal naar elkaar opgooien en vangen. Het doel van het spel wordt verklaard als het meten van de participanten hun vaardigheden bij het mentaal visualiseren van het passen van de bal, en dat het spel een middel is om dit te helpen inoefenen. De twee online deelnemers bestaan niet echt en worden door de computer gespeeld, maar de participant is hier niet van op de hoogte en wordt verteld dat dit werkelijke, authentieke mensen zijn.

Het spel bestaat uit het passen van de bal tussen de deelnemers (inclusief de proefpersoon) onderling. Hiervoor moet de participant, wanneer hij of zij de bal krijgt, de bal aan een van de digitale deelnemers geven. De participant kiest naar welke deelnemer hij de bal werpt door ofwel een linker pijltoets ofwel een rechter pijltoets, om respectievelijk naar de linker – dan wel de rechter deelnemer te passen. Om de inclusie -en exclusiefase overtuigend te laten overkomen en de geloofwaardigheid te verhogen dat participanten met “echte” deelnemers spelen, werd tijdens dit onderzoek gebruik gemaakt van een kansrekening om te bepalen in hoeveel van de gevallen de participant de bal krijgt. In de inclusiefase krijgt hij of zij de bal in 33% van de gevallen volgens de kansverdeling: [0.33, 0.66, 1]. Tijdens de exclusiefase wordt het aantal passen dat de participant ontvangt gereduceerd zodat hij of zij de bal gemiddeld slechts eenmaal om de 7 worpen toegeworpen krijgt, dit gebeurt opnieuw volgens een kansverdeling per worp: [0, 0, 0, 0.16, 0.16, 0.33, 0.33, 0.66, 0.66, 1]. Merk hierbij op dat volgens deze verdeling de participant tijdens de exclusiefase de bal nooit zal ontvangen tijdens de eerste 3 worpen die de digitale deelnemers maken. Om wederom de geloofwaardigheid te verhogen dat dit echte deelnemers zijn varieert desgelijks elke beurt de tijd die iedere computer-gegenereerde speler nodig heeft om zijn of haar beslissing te maken en de bal te passen, dit varieerde willekeurig tussen de 1.5 en 3 seconden (20).

2.4. MIST

De tweede keer dat proefpersonen participeren en ze deelnemen aan de MIST, wordt hun verteld dat ze moeten hoofdrekenen. Het doel van deze deelname wordt hun verklaard als het onderzoeken of hoofdrekenen dezelfde breinnetwerken activeert als mentale inbeelding, doordat rekenen gezien kan worden als het mentaal inbeelden van veranderende getallen. Een computerprogramma construeert hiervoor een opgave die de patiënt uit zijn hoofd dient uit te rekenen, getallen van 0 tot 99 worden gebruikt en tot 4 verschillende vervoegingen kunnen gebruikt worden (+ voor optelling, - voor aftrekking, * voor vermenigvuldiging en / voor deling). De oplossing is steeds een getal tussen 0 en 9 zodat de patiënt met een enkele toets de vraag kan beantwoorden. Er is een moeilijkheidsgraad ingebouwd in het programma met 5 verschillende categorieën. In de 2 makkelijkste categorieën worden enkel opgaven met 2 of 3 enkelcijferige gehele getallen gebruikt en de vervoegingen zijn beperkt tot + en -. In de 2 categorieën daarboven, die van gemiddelde moeilijkheidsgraad zijn, kunnen de opgaven tot 4 gehele getallen bevatten, waarvan 2 tweecijferige nummers kunnen zijn. In deze categorie kan ook de * vervoeging gebruikt worden. In de 5^e en moeilijkste categorie bevatten de opgaven standaard 4 gehele getallen, die zich allemaal in de tweecijferige orde kunnen bevinden, en worden zowel de * als / vervoegingen gebruikt (22).

Tijdens de controlefase is er geen tijdslimiet voor het maken van de oefeningen en wordt de vaardigheid van de participant om de opgaven op te lossen geschat door het meten van de gemiddelde tijd die hij of zij nodig heeft doorheen de verschillende moeilijkheidsgraden. In deze fase wordt meestal 90% van de vragen juist opgelost.

De gemeten gemiddelde tijd die de participant nodig had om de oefeningen op te lossen tijdens de eerste fase wordt tijdens de experimentele fase gebruikt als de tijdslimiet die wordt opgedrongen. Het programma stelt de tijdslimiet in op 20% minder dan de gemeten gemiddelde tijd zodat een hoog faalpercentage bereikt wordt. Bijkomend reduceert het programma, wanneer de proefpersoon erin slaagt consecutief 3 rekensommen juist op te lossen, de tijdslimiet met 10%. Omgekeerd verlengt het programma de tijdslimiet met 10% indien de proefpersoon consecutief 3 oefeningen fout oplost. Onder deze omstandigheden wordt gedurende de experimentele fase een orde van 20-45% correcte antwoorden afgedwongen. Bij een correct antwoord ziet de participant “correct” verschijnen op het computerscherm voor de volgende rekensom wordt getoond, bij een incorrect antwoord ziet de participant “incorrect”. Participanten kunnen gezien de tijdslimiet tijdens de experimentele fase ook een “timeout” zien verschijnen op het scherm wanneer ze er niet in slagen een opgave

binnen de tijd op te lossen. De tijd wordt voor participanten visueel voorgesteld door een zwarte, krimpende balk bovenaan hun computerscherm.

Tijdens de experimentele fase wordt naast tijdsdruk ook een sociaal-evaluatieve bedreiging opgedrongen; hiertoe zien de participanten aan de onderkant van hun scherm een balk met 2 prestatie-indicatoren: 1 die de participant zijn eigen prestatie weergeeft, en 1 die hem of haar vergelijkt met een “referentiegroep” die ogenschijnlijk bestaat uit de gemiddelde score van alle participanten. De gemiddelde score wordt aangeduid in een groen gedeelte, tegen de rechterkant van de balk, terwijl de participant zijn individuele prestatie zich doorgaans aan de linkerzijde, in de rode zone van de balk bevindt. De participant wordt door de onderzoekers eraan herinnerd dat zijn of haar resultaten niet bruikbaar zijn voor de studie indien men niet hoog genoeg scoort; zijn of haar score moet in de buurt liggen van - of dezelfde zijn als - die van de referentiegroep. De gemiddelde score van de referentiegroep wordt meegedeeld als zijnde 80-90% correcte antwoorden.

Tijdens de controlefase probeert het computerprogramma te compenseren voor hersenactiviteit die wordt veroorzaakt door het maken van de rekenoefeningen en onafhankelijk is van de stress component, zodat in de analyses erna hiervoor gecorrigeerd kan worden. Hiertoe zijn de opgegeven rekenoefeningen tijdens deze fase van dezelfde moeilijkheidsgraad en frequentie als tijdens de experimentele fase laterop. Enkel de tijdslimiet en prestatie-indicatoren zijn in deze fase niet aanwezig. Tijdens de controlefase wordt aan de proefpersoon enkel meegegeven dat hij of zij de oefeningen zo snel en accuraat mogelijk dient op te lossen maar dat zijn of haar resultaten niet worden geëvalueerd omdat dit een controlefase is.

Na deze tweede deelname hebben de participanten het volledig onderzoek doorlopen en worden zij voorzien van een uitgebreide debriefing waarin het werkelijke doel van het onderzoek hun wordt meegedeeld. De Cyberball en MIST taken worden verklaard en er wordt hun verteld dat de online deelnemers bij Cyberball computer-gegenereerd waren. Participanten kregen een bedrag van 40 euro voor hun participatie en een link naar de onderzoeker zijn e-mail adres indien zij verdere vragen hadden.

2.5. EEG Datapreparatie

Wat in deze sectie besproken wordt is gebaseerd op een extract van een lopend onderzoeksartikel door ir. Vanhollebeke, welke verantwoordelijk was voor de voorbereiding van de EEG-gegevens.

De EEG-data werd eerst volgens bandpass filtering bewerkt zodat enkel frequenties tussen 1Hz en 40Hz overbleven, Alfa -en Bèta werden gemeten in respectievelijk de 8-13Hz en 13-30Hz frequenties. Ruissignalen van de stroomtoevoer voor het EEG-apparaat zelf werden via een notch filter (ingesteld op 50Hz) verwijderd. De EEG-elektroden onder de ogen (kanalen 126 en 127) werden uit de analyse gelaten om signalen van spieractiviteit te vermijden en op basis van visuele inspectie werden slechte kanalen gelokaliseerd en geïnterpoleerd. Artefacten van oogbewegingen werden verwijderd met behulp van een geautomatiseerde onafhankelijke component analyse, waarbij (om oogknippering te detecteren) gekeken werd naar een plotse stijging in hellingscurve van de tijdseries van de elektroden direct boven de ogen. Overige artefacten werden geïdentificeerd aan de hand van minimum-maximum -en variantie criteria (minimale voltageveranderingen van 0.5 $\mu\text{V}/100\text{ ms}$, maximale veranderingen van 50 $\mu\text{V}/\text{ms}$ en een maximale variantie van 200 $\mu\text{V}/200\text{ ms}$ waren toegelaten). EEG tijdseries werden onderverdeeld in blokken van 3 seconden en data werd 200ms voor -en na gedetecteerde artefacten gemarkeerd, zodat elk tijdsblok van 3 seconden dat een artefact bevat in zijn geheel zou kunnen worden verwijderd.

Om bronmodellering voor de sensormetingen van de EEG elektroden mogelijk te maken werd de *brainstorm* toolbox gebruikt (versie 3.220517 (48)). Gezien voor dit onderzoek bij participanten geen individuele MRI hersenscans uitgevoerd werden, werd de *USCbrain atlas* van Joshi et al. (49) als hoofdmodel gebruikt om de neurale bronnen op terug te brengen. De tijdseries van alle regio's in de atlas (130 in totaal) werden bepaald aan de hand van de gemiddelde waarde van alle dipolen verbonden voor elke regio. De tijdseries voor de anterieure insula, inferieure frontale gyrus en precuneus in beide hemisferen werden geselecteerd voor verdere studie.

De functionele connectiviteit tussen de onderzochte regio's werd bepaald in de Alfa -en Bètafrequentie aan de hand van *amplitude envelope correlation* (AEC), welke correlaties tussen breinregio's onderzoekt aan de hand van gelijkenissen in amplitudeveranderingen tussen diens tijdseries (38,50). De tijdseries voor Alfa -en Bèta werden eerst per breinregio georthogonaliseerd om door bronmodellering-veroorzaakte lekkage van bronnen in andere regio's tegen te gaan (51). Na orthogonalisatie werden de amplitudefluctuaties per tijdserie bepaald en konden de correlaties tussen deze berekend worden. De correlatiewaarde van

AEC varieert van -1 tot 1, waarbij een hogere waarde ongeacht het toestandsteken een meer uitgesproken functionele connectiviteit indiceert.

De relatieve powermetingen werden in de Alfa -en Bètafrequentie berekend voor de geselecteerde regio's, hiervoor werden eerst de powermetingen voor het volledige frequentiespectrum (1Hz-40Hz) bepaald. Alfa en Bèta werden apart berekend en elk verdeeld door de power van het volledige spectrum, resulterend in een relatieve powerwaarde, gelegen tussen 0 en 1. Deze waarde kan gezien worden als het percentage van totale power in desbetreffende frequentie. De berekeningen werden per tijdsblok van 3 seconden uitgevoerd en de resulterende powerwaarden voor alle participanten werden uitgemiddeld om zodanig 1 gemiddelde waarde te bekomen.

2.6. Statistische Analyse

De statistische analyse van zowel de EEG -als vragenlijst data werd uitgevoerd met behulp van het computerprogramma RStudio (versie 4.2.1. (52)).

Voor de vragenlijst data werd per gevoelsdomein en Stress een *Two-Way repeated measures* ANOVA uitgevoerd om het globale effect van de verschillende onderzoeksfasen, de paradigma's en een mogelijke wisselwerking tussen deze twee te onderzoeken. Post hoc werden *One-Way* ANOVAs uitgevoerd om de effecten van tijd per paradigma te bestuderen. Om te onderzoeken tussen welke specifieke fasen van het onderzoek scores significant verschilden en of dit verschilde tussen Cyberball en MIST werd subsequeunte T-testing uitgevoerd. Als *multiple comparison* correctiemethode werd Bonferroni gebruikt. Hoewel om de onderzoeksvraag te beantwoorden enkel de controle -en stressfase van belang zijn en zullen besproken worden, werd een tweede analyse met inclusie van ook de baseline -en rustfasen uitgevoerd en op sommige momenten kort aangehaald en toegelicht om foute interpretaties te vermijden van veranderingen tussen controle-stress die deel zouden uitmaken van een algemene trend.

De EEG-data werd voor zowel Alfa als Bèta gelijkaardig aan de vragenlijst data initieel onderzocht met een MANOVA om type I fouten bij verdere testing te voorkomen en om een globaal beeld te verkrijgen over de effecten van de onderzoeksfasen, de paradigma's en de wisselwerking tussen deze twee. Voor de functionele connectiviteitsdata werd hierop volgend T-testing uitgevoerd om significante verschillen tussen specifiek de controle -en stressfase te onderzoeken bij elke mogelijke connectie tussen 2 regio's. Met betrekking tot de powermetingen werd voor elke regio afzonderlijk T-testing uitgevoerd tussen controle-stress

om significante veranderingen in relatieve power te identificeren. Er werd gekozen voor *false discovery rate* (fdr) als *multiple comparison* correctiemethode.

3. RESULTATEN

3.1. VAS Vragenlijst

3.1.1. Cronbach's Alpha

Alvorens de data van de vragenlijst werd geanalyseerd, werd de Cronbach's Alpha coëfficiënt berekend om de interne consistentie tussen de vragen te controleren (53). Als tijdstip om deze controle uit te voeren werd de stressfase van het onderzoek gekozen. Cronbach's Alpha bedroeg voor NA, PA en PS respectievelijk 0.863, 0.947 en 0.932, wat op zijn beurt respectievelijk wijst op een goede en tweemaal uitstekende interne consistentie en betekent dat de gekozen gevoelsdomeinen betrouwbaar kunnen gebruikt worden als somscore van de onderliggende vragen. Voor Stress werd geen Cronbach's Alpha berekend gezien de gerapporteerde mate van stress zich baseert op 1 enkele vraag.

3.1.2. Vragenlijst

Het effect van tijd op de uitkomstscores van de vragenlijst was algemeen significant voor alle gevoelsdomeinen ($p < 0.05$). Deze significante invloed van de verschillende onderzoeksfases was alom van toepassing voor zowel Cyberball als MIST ($p < 0.05$) uitgezonderd het gevoelsdomein Stress, waar significantie enkel voor het MIST paradigma werd gevonden ($p < 0.05$). De effectgrootte (*generalised effect size*, ges) van de scoreveranderingen voor de invloed van tijd was klein (NA: ges = 0.046 (Cyberball: ges = 0.067, MIST: ges = 0.03), PA: ges = 0.017 (Cyberball: ges = 0.07, MIST: ges = 0.001), PS: ges = 0.088 (Cyberball: ges = 0.061, MIST: ges = 0.11), Stress: ges = 0.052 (Cyberball: ges = 0.003, MIST: ges = 0.13)). Tijdstippen controle – stress verschilden significant voor het gevoelsdomein NA voor Cyberball (controle: score = 3.81, sd = 7.91; stress: score = 9.11, sd = 11.6; $p < 0.001$) en voor MIST (controle: score = 7.85, sd = 9.96; stress: score = 12.3, sd = 15.9; $p < 0.05$). Binnen het gevoelsdomein PA verschilden controle – stress enkel voor Cyberball (controle: score = 46.9, sd = 21.1; stress: score = 35.5, sd = 20.9; $p < 0.001$). Voor het gevoelsdomein PS verschilden controle – stress voor Cyberball (controle: score = 70.6, sd = 17.9; stress: score = 61.4, sd = 18.4; $p < 0.01$) en MIST (controle: score = 55.5, sd = 22.3; stress: score = 39.9, sd = 22.2; $p < 0.001$). Voor Stress werd enkel bij het MIST paradigma een significant verschil tussen

controle – stress gevonden (controle: score = 29.9, sd = 27.5; stress: score = 48.9, sd = 21.9; $p < 0.001$).

Het soort paradigma waaraan patiënten deelnamen had voor zowel NA, PS als Stress een effect ($p < 0.05$) op de scores die zij rapporteerden; de stressconditie van het onderzoek lokte zeer significant verschillende scores uit tussen MIST en Cyberball voor de gevoelsdomeinen PS (Cyberball: score = 61.4, sd = 18.4; MIST: score = 39.9, sd = 22.2; $p < 0.001$) en Stress (Cyberball: score = 20.9, sd = 24.4; MIST: score = 48.9, sd = 21.9; $p < 0.001$). De controleconditie lokte eveneens significant verschillende scores uit bij MIST tegenover Cyberball, zowel voor NA (Cyberball: score = 3.81, sd = 7.91; MIST: score = 7.85, sd = 9.96; $p < 0.05$), PS (Cyberball: score = 70.6, sd = 17.5; MIST: score = 55.5, sd = 22.3; $p < 0.001$) als voor Stress (Cyberball: score = 18.4, sd = 24.6; MIST: score = 29.9, sd = 27.5; $p < 0.05$). De algemene effectgrootte voor deze verschillen tussen Cyberball en MIST was klein (NA: ges = 0.023, PS: ges = 0.171, Stress: ges = 0.147). Voor het gevoelsdomein PA werden geen significante verschillen gevonden tussen Cyberball en MIST.

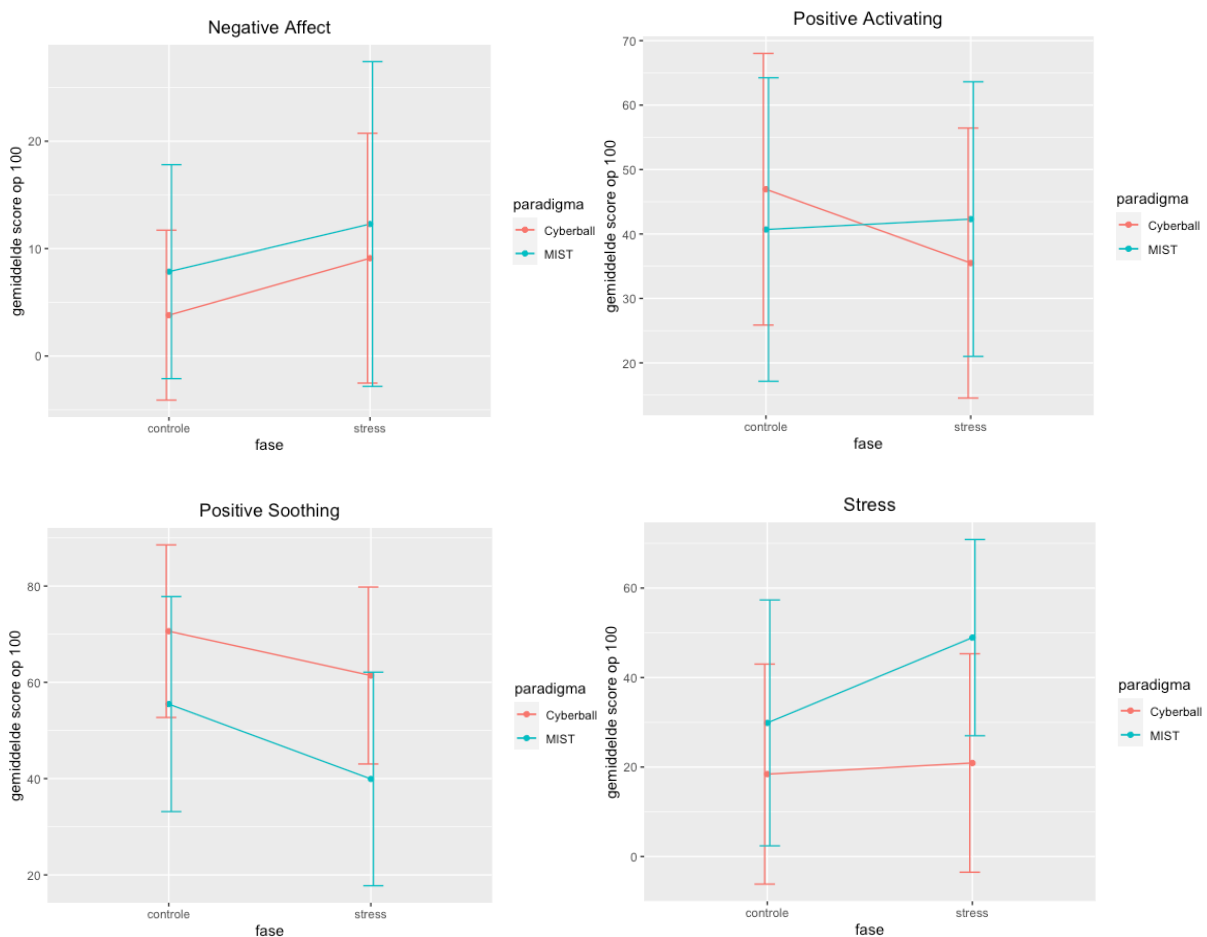


Fig 2. Scoreveranderingen tussen de controle -en stressconditie per gevoelsdomein.

Er werd een wisselwerking-effect gevonden tussen het soort paradigma waaraan patiënten deelnamen en de fasen van het onderzoek, op de uitkomstcores bij het gevoelsdomein PA ($p < 0.05$, ges = 0.028) en Stress ($p < 0.05$, ges = 0.024).

3.2. EEG Functionele Connectiviteit

De uitgevoerde MANOVAs gaven geen significantie voor de effecten van tijd en het gebruikte paradigma, noch enige wisselwerking tussen beide. Er kon bij verdere T-testing voor geen enkele connectie tussen de onderzochte regio's een significant verschil tussen de controle - en stressconditie aangetoond worden, zowel niet in de Alfa -als Bètaband. De veranderingen in scores waren vaak zeer klein en gelijkaardig aan de vragenlijst data waren relatieve standaarddeviaties vaak zeer groot ($RSD > 1$).

Enkel het MIST paradigma slaagde erin bij 1 van de onderzochte connecties een significante verandering uit te lokken, wanneer *multiple comparison* correctie achterwege gelaten werd. Het betreft de functionele connectiviteitsverandering in de Alfa-band tussen de linker anterieure insula (lAI) en de rechter inferieure frontale gyrus (rIFG), met $p = 0.0468 < 0.05$ (welke herleid werd naar $p = 0.9519231$ na fdr correctie). Het dient hierbij echter vermeld te worden dat dit een kleine verandering in scores betrof met uitgesproken relatieve standaarddeviaties (controle: AEC = 0.00965, sd = 0.0347; stress: AEC = -0.00225, sd = 0.0278).

Het op een na dichtste resultaat bij significantie betrof eveneens een connectie met de linker anterieure insula (in dit geval met de rechter anterieure insula (rAI)), die zonder *multiple comparison* correctie de significantiedrempel slechts benaderde ($p = 0.0793$, fdr: $p = 0.968$). Deze connectie toonde een positief toegenomen connectiviteitsverandering in de Bètaband tussen de controle -en stressconditie bij Cyberball (controle: AEC = 0.0267, sd = 0.0231; stress: AEC = 0.0337, sd = 0.0226). Het betreft hier opnieuw kleine scoreverschillen, hoewel de RSD onder 1 blijft.

3.3. EEG Power

Gelijkaardig aan de functionele connectiviteitsdata werden voor de powerdata eveneens geen significante veranderingen gevonden. De MANOVAs gaven geen significantie voor de effecten van tijd, het gebruikte paradigma of enige wisselwerking tussen beide. Bij verdere T-testing kon in beide frequentiebanden voor geen enkele regio een significant verschil gevonden worden tussen de fasen controle en stress. Ook zonder fdr correctie werden geen significante resultaten gevonden. De veranderingen in scores waren opnieuw weinig uitgesproken en relatieve standaarddeviaties waren vaak zeer groot ($RSD > 1$).

4. DISCUSSIE

Het doel van ons onderzoek was om de effecten van psychosociale stress op de functionele connectiviteit in het brein te bestuderen en te achterhalen of voor verschillende paradigma's een gemeenschappelijke stressrespons geformuleerd kan worden. Hiertoe werden 73 participanten gerekruteerd die in onderzoeksomstandigheden werden blootgesteld aan psychosociale stressoren, geïnduceerd door Cyberball en MIST. De participanten doorliepen bij elke deelname zowel een controle -als stressconditie zodat het verschil tussen deze fasen zou instaan voor de stressrespons. De VAS vragenlijst diende aan te geven of de paradigma's erin slaagden een stressrespons te bewerkstelligen en de EEG-connectiviteitsdata diende aan te geven welke connectiviteitsveranderingen optraden. Mogelijke connectiviteitsveranderingen werden enkel bestudeerd voor de anterieure insula, inferieure frontale gyrus en precuneus, 3 voorname breinregio's betrokken bij de psychosociale stressrespons. Om deze te isoleren voor de analyse werd voor het eerst gebruik gemaakt van bronlokalisatie en om de connectiviteitsdata te onderbouwen werden voor deze regio's EEG-powermetingen bijbepaald. Gezien EEG toelaat functionele connectiviteit in verschillende frequentiespectra te onderzoeken werd de analyse uitgevoerd voor zowel de Alfa -als Bètafrequentie, om te onderzoeken of de geselecteerde breinnetwerken over verschillende functionele rollen beschikken. De statistische analyse van de vragenlijst -en EEG-data werd uitgevoerd met *repeated measures* ANOVAs en MANOVAs, gevolgd door subsequeante T-testing. Onze bevindingen suggereren dat de paradigma's erin slaagden psychosociale stress bij de participanten te induceren, echter werden voor de onderzochte regio's geen significante connectiviteitsveranderingen tussen controle-stress gevonden. Enkel veranderingen in twee connecties met de linker anterieure insula benaderden het significantieniveau. Over het algemeen betroffen het veranderingen met kleine effectgroottes en grote standaarddeviaties, wat deels te wijten is aan de methoden van het onderzoek en wat nogmaals de complexiteit van breinonderzoek benadrukt.

4.1. VAS Vragenlijst

4.1.1. Effectgroottes en Standaarddeviaties

De veranderingen in scores op de vragen waren relatief weinig uitgesproken wanneer men zich eraan herinnert dat de totale spreidingsbreedte van de VAS zich uitstrekt van 0 tot 100, hierdoor waren de effectgroottes die bij de ANOVA-tabellen gegeven werden vaak zeer klein. Dit miskent echter het feit dat de veranderingen in scores groot ten opzichte van elkaar konden zijn en er regelmatig (tussen de controle -en stressconditie) verdubbelingen of halveringen plaatsvonden (dit was het geval voor de scores van het gevoelsdomein NA). Gezien de berekende Cronbach's-Alpha coëfficiënten impliceren dat de bevroegde emoties voldoende belichamend waren voor de gekozen gevoelsdomeinen, zou dit resultaat alsnog de moeilijkheidsgraad kunnen aantonen voor questionnaires om deze emoties te bevragen bij psychosociaal stressonderzoek, wanneer de gebruikte stressoren slechts subtiel zijn.

Tweede, waren de (relatieve) standaarddeviaties vaak zeer groot, wat aangeeft dat participanten tegenover elkaar een weinig uniform antwoord rapporteerden. Deze hoge standaarddeviaties zijn visueel weergegeven in de grafieken van Fig 2. De relatieve standaarddeviaties voor *Positive Soothing* waren het kleinst, terwijl scoreveranderingen tussen controle-stress voor dit gevoelsdomein vrij uitgesproken waren. Dit suggereert dat een daling in kalmtegevoel door de stressconditie een van de meer hoofdzakelijke en uniforme bevindingen was met betrekking tot de gerapporteerde scores.

4.1.2. Controle-Stress

Het verschil tussen de controle -en stressconditie was bij alle gevoelsdomeinen significant.

De stressoren van Cyberball lokten een stijging uit van negatieve emoties en een daling van kalmerende en positief stimulerende emoties, maar slaagden er niet in het gerapporteerde gevoel van stress te verhogen. Dit laatste ligt vermoedelijk aan het feit dat het Cyberball paradigma niet primair werd ontwikkeld om bij proefpersonen stress te induceren maar eerder om de effecten van sociale exclusie te onderzoeken, in bijzonder op de gemoedstoestand en emoties van het individu (20,43). Dit wordt weerspiegelt door het feit dat Cyberball bij alle bevroegde gevoelsdomeinen een significante verandering in scores uitlokte. Het moet echter vermeld worden dat een analyse van de overige fasen van het onderzoek aantoont dat voor

de daling in positief stimulerende gevoelens bij Cyberball mogelijks een volgorde-effect speelt (de beschreven daling werd bij elke opeenvolgende fase van het onderzoek waargenomen). Dit weerspiegelt hoogstwaarschijnlijk een algemeen groeiende desinteresse en vervoeeldheid met het onderzoek door participanten en het is onzeker welke invloed het Cyberball paradigma zelf had op de daling tussen de controle -en stressfase. De stressoren van het MIST paradigma zorgden voor een daling in kalmerende emoties en een stijging van negatieve emoties en stress. Voor zowel Cyberball als MIST kon aldus aangetoond worden dat psychosociale stressinductie tijdens dit onderzoek succesvol was, zodanig dat voor beide paradigma's de psychosociale stressrespons tussen de controle -en stressfase betrouwbaar onderzocht kan worden.

4.1.3. Algemene verschillen Cyberball-MIST

Algemeen leek MIST een meer uitgesproken effect te hebben op de kalmerende emoties en stress, terwijl Cyberball tegenover MIST een meer uitgesproken effect had op de negatieve emoties. Het meer uitgesproken effect van MIST op het kalmte -en stressgevoel ligt wellicht aan het feit dat de MIST een klassiek stressinductie paradigma is dat gebruik maakt van prestatie gerelateerde componenten (zoals hoofdrekken) in combinatie met een sociaal evaluatieve bedreiging in de stressconditie om voor een maximale verhoging in activiteit van de hypothalamus-hypofyse-bijnier-as (HPA-as) te zorgen (een belangrijke component in de hersenen betrokken bij de stressrespons) (13,18). Bovendien is voor laboratoriumtaken zoals hoofdrekken inmiddels aangetoond dat deze op zichzelf reeds een stijging van cortisolniveaus kunnen bewerkstelligen (een fysiologische marker voor stress) (45,54,55). Dit lijdt ertoe dat het MIST paradigma primair stress-inducerend werkt, wat het verschil in scoreveranderingen met Cyberball verklaard. Dat Cyberball een groter effect had op de negatieve emoties dan MIST ligt zoals eerder vermeld allicht aan het feit dat de aard van het Cyberball paradigma (sociale exclusie) meer op de gemoedstoestand en emoties van de proefpersoon inwerkt.

4.2. EEG Functionele Connectiviteit/Power

Algemeen werden enkel insignificante verschillen gevonden tussen de controle -en stressconditie, voor alle onderzochte regio's in zowel de Alfa -als Bètafrequentie en voor zowel de functionele connectiviteit -als powerdata. Dit resultaat zal in deze sectie toegelicht worden met enkele verklaringen en voorstellen voor toekomstig onderzoek. Tenslotte zullen de connectieveranderingen met de linker anterieure insula, welke de significantiedrempel benaderden, kort besproken worden.

4.2.1. Algemene Resultaten

Allereerst was de grootte van de geobserveerde veranderingen hoogstwaarschijnlijk de belangrijkste oorzaak voor het niet behalen van significantie. De bescheiden verschillen in relatieve power voor de breinregio's wijzen op een beperkt effect van psychosociale stress tijdens dit onderzoek. Vermoedelijk ligt dit voor een groot deel aan de methoden voor stressinductie, meer specifiek het gegeven dat participanten in een kunstmatige omgeving taken digitaal moesten uitvoeren. Het induceren van psychosociale stress op deze manier ontbreekt in zekere zin een gevoel van realiteit en het reproduceren van sociaal evaluatieve - of sociale uitsluitingsstress zou per definitie het meest effectief gebeuren in interpersoonlijke, menselijke contacten (15). De vragenlijstdata impliceert overigens dat participanten aangaven zich doorheen de verschillende fasen van het onderzoek progressief minder gestimuleerd te voelen (zie sectie 4.1.2.), wat gezien de insignificante veranderingen de vraag oproept of voor toekomstig onderzoek niet gekeken dient te worden naar andere, meer realistische en meer uitgesproken stress-inducerende paradigma's. Door de implementatie van stress-inducties die minder steunen op een kunstmatige digitale setting en meer interpersoonlijke methoden incorporeren zou wellicht ook de ecologische validiteit van de resultaten verhogen, echter vereist het naleven van ethische principes voorzichtigheid bij het uitvoeren van onderzoeksprocedures die een te zware belasting op nietsvermoedende deelnemers zouden leggen. De *Trier Social Stress Test* (TSST) is een voorbeeld van een psychosociaal stressparadigma dat fysieke sociale ontmoetingen bevat en zeer effectief is gebleken in het induceren van psychosociale stress bij deelnemers, en dat bovendien reeds succesvol is toegepast binnen de EEG-omgeving (12,54).

Ten tweede werd weinig uniformiteit in de antwoorden en reacties van participanten gevonden, bij zowel de vragenlijst -als EEG-data. Dit impliceert dat participanten tegenover elkaar zowel subjectief als objectief verschillend reageerden op de gegeven stimuli. De studiepopulatie voor dit onderzoek was echter vrij homogeen en bestond voor een groot deel uit studenten van de universiteit in Gent, waarvan het grootste deel Kaukasische adolescente vrouwen uitmaakte (zie sectie 2.1.). Dit doet vermoeden dat de invloeden van leeftijd, sociale achtergrond, etniciteit en gender bij dit onderzoek minder een rol speelden (56), ondanks het feit dat dit parameters vormen die tot verschillende resultaten kunnen leiden (57–61). De hoge spreiding in resultaten en het ontbreken van significantie impliceert echter dat bepaalde variabelen binnen de studiepopulatie desondanks een substantiële invloed uitoefenden. Het is een feit dat binnen deze populatie ook sociale of professionele rangen, levensstijlfactoren en persoonlijkheidskenmerken, alsook hormonale schommelingen binnen hetzelfde individu een rol spelen in de stressrespons en deze hadden kunnen beïnvloeden (62–65). Bovendien zouden participanten door eerdere ervaringen en adaptaties als aangeleerd stressmanagement andere breinnetwerken kunnen gebruiken voor de verwerking van de stressrespons, afhankelijk van het feit of de opgelegde stressor persoonlijk relevant was voor het individu of niet (62,66). In welke mate bij toekomstig onderzoek met deze variabelen rekening gehouden en voor gecorrigeerd dient te worden is echter twijfelachtig, gezien de laatstgenoemde punten eerder weggelegd lijken voor specialistisch onderzoek binnen het vakgebied en het nastreven van een individualisatie voor de stressrespons zou leiden tot een progressief zwakkere externe validiteit van de resultaten. Dit alles toont ondanks de relatieve homogeniteit van onze studiepopulatie de moeilijkheidsgraad om bij verschillende individuen voldoende overlap in cerebrale activeringspatronen te bewerkstelligen teneinde het behalen van statistisch relevante significantieniveaus te vereenvoudigen. Met betrekking tot de EEG-data zou het overigens kunnen dat de hoge standaarddeviaties deels terug te leiden zijn naar individuele verschillen in breinanatomie en overlapverschillen met de gebruikte bronmodellering (zie sectie 4.2.2.).

Ten derde leken Cyberball en MIST significant verschillende effecten uit te oefenen op de gerapporteerde gemoedstoestanden en stresswaarden tijdens het onderzoek, een observatie die lijkt doorgetrokken te worden in de functionele connectiviteit -en powerdata, waarbij telkens slechts een van beide paradigma's erin slaagde het significantieniveau te benaderen. Dit weerspiegelt wat in de fMRI studie van Berretz et al. (19) voor cerebrale activatiepatronen bij psychosociale stress is aangetoond en suggereert dat Cyberball en MIST als inductiemethoden van respectievelijk sociaal exclusieve en sociale evaluatieve stress afzonderlijk onderzocht dienen te worden. Naar toekomstig onderzoek toe zou het combineren van stressparadigma's die inwerken op dezelfde psychosociale stressoren eveneens kunnen

helpen om sneller significantie te bekomen vanwege het beter uitmiddelen van de EEG-signalen (zie sectie 4.2.2). Door het ontbreken van significante connectiviteitsveranderingen in dit onderzoek kan echter niet volledig worden uitgesloten dat Cyberball en MIST toch een aanzienlijk overlappend effect delen, wat zou kunnen instaan voor een gegeneraliseerde respons bij psychosociale stress.

4.2.2. Complexiteit en Limitaties van EEG onderzoek

Hoewel de insignificantie van de resultaten voor een deel te verklaren is door de gebruikte methoden om psychosociale stress te induceren en de variabiliteit tussen individuen, moet dit gegeven geplaatst worden binnen het kader van breinonderzoek met EEG, op vlak van de complexiteit en interpretatie van de gegevens, alsook ten aanzien van de limitaties van EEG tegenover andere onderzoekstechnieken en de inherente moeilijkheden voor EEG bij breinonderzoek om statistisch significante resultaten te behalen.

Het is ten eerste belangrijk er zich van bewust te maken dat het onderzoeken van psychosociale stress en functionele breinnetwerken met EEG zich voorlopig nog in een pioniersfase bevindt (12). De metingen waarop men zich baseert bestaan immers uit microvoltages van oppervlakkige vectorspanningen op de schedelhuid, waarbij voor problemen zoals volume conductie (de diffusie van elektrische signalen doorheen het hoofd, afkomstig van verscheiden breinregio's (67)) pas recentelijk oplossingen (zoals het gebruik van bronlokalisatie algoritmen) zijn voorgesteld (27,30,31,34). De oppervlaktemetingen bevatten alsnog veel ruissignalen en relatief weinig blijft geweten over de specifieke neurofysiologische gebeurtenissen die achter deze metingen zitten (42). Veel psychosociale stressoren vormen bovendien slechts een subtiele stimulus in vergelijking met de meeste effectoren waarvoor EEG klassiek wordt toegepast, zoals spiercontracties en epileptische insulten, welke leiden tot grote ontladingen (68). Dit benadrukt nogmaals de moeilijkheidsgraad voor EEG-onderzoek om psychologische fenomenen te converteren naar een pathofysiologie op basis van cerebrale activeringspatronen, welke kwalitatief uitgemiddelde tijdseries vereist om ruis van signaal voldoende te onderscheiden en adequate significantieniveaus te behalen. Herhaalde metingen (zoals het eerder vermelde gebruik van meerdere gelijkaardige stressparadigma's) en hoofdzakelijk een voldoende grote patiëntenpopulatie lijken hiertoe noodzakelijk.

Ten tweede wordt bij EEG-onderzoek niet standaard het hele brein onderzocht. In dit onderzoek werden slechts 3 breinregio's bestudeerd en de mogelijkheid bestaat dat andere regio's, indien onderzocht, wel tot significante veranderingen geleid zouden hebben; de literatuur toont immers nog verschillende regio's betrokken bij psychosociale stress (19,21,39,69–71). In tegenstelling wordt bij fMRI het brein in zijn geheel onderzocht en worden alle regio's simultaan gevisualiseerd, dit includeert subcorticale hersenstructuren die bij EEG vaker ontoegankelijk zijn wegens superpositie van elektrische signalen (en waarvoor eveneens betrokken structuren bij psychosociale stress zijn beschreven) (19,39,69,72). Vanwege de uitgesproken spatiale resolutie en het bijgevolge substantieel grote aantal voxels (3D pixels) dat per fMRI protocol in het brein bekeken wordt, is het voor fMRI studies eveneens een stuk eenvoudiger om statistisch significante resultaten te bekomen, afhankelijk van welke multipale *comparison* correctiemethode wordt toegepast (73,74). De regio's van de breinatlas die bij dit onderzoek voor bronmodellering gekozen werden om te refereren naar de anterieure insula, inferieure frontale gyrus en precuneus waren vrij groot om verkeerde toewijzingen van signalen tegen te gaan, gezien de spatiale resolutie van ons EEG-toestel (met "slechts" 128 elektroden) anders meer beperkt zou zijn dan deze van de template. Dit resulteert echter in regio's waarbij een deel van het signaal afkomstig is van structuren buiten de interesse van de onderzoeksvraag, wat het moeilijker maakt om statistische significantie te halen. Door anatomische variatie tussen individuen kan het anderzijds alsnog voorvallen dat een breinregio niet volledig binnen de gespecificeerde zone van de atlas valt, en bijgevolg een deel van het signaal wegvalt. Deze individuele variatie vormt aldus een limiterende factor voor het toegepaste hoofdmodel tijdens dit onderzoek en hoewel dit soort breintemplates een betere grond voor bronmodellering vormen dan een willekeurig MRI sjabloon, zouden voor EEG-bronlokalisatie MRI's voor elk individu afzonderlijk de beste spatiale resultaten bewerkstelligen (75).

Dit alles onderlijnt de complexiteit van breinonderzoek en de limitaties van EEG om hierin aan statistisch significante informatie te komen en benadrukt nogmaals de pioniersfase waarin dit soort onderzoek zich alsnog bevindt.

4.2.3. Linker Anterieure Insula

Er werden 2 connecties met de linker anterieure insula (IAI) gevonden waarbij de veranderingen tussen de controle -en stressconditie het significantieniveau benaderden; tijdens het MIST paradigma daalde de Alfaband connectiviteit met de rechter inferieure frontale gyrus (rIFG) en bij Cyberball steeg de Bètaband connectiviteit met de rechter anterieure insula (rAI). Hoewel deze resultaten met uiterste voorzichtigheid benaderd dienen te worden zullen deze kort worden toegelicht.

De anterieure insula is een sterk geconnecteerd reflectief emotioneel verwerkingscentrum dat een sleutelrol speelt bij subjectieve gevoelstoestanden en dat door zijn anatomische positie deze emoties met cognitie en motivatie integreert (76). De linker AI heeft een breed respons-profiel met netwerken voor zowel interne als sociale cognitie terwijl de rechter AI fungeert als een coördinerend *salience*-netwerk dat opvallende events of veranderingen in de omgeving opmerkt en geschikte breinregio's engageert om deze te verwerken, zodat een gepaste gedragsverandering teweeg gebracht zou worden (77,78). De inferieure frontale gyrus is daarentegen een anatomisch slecht gedefinieerde regio die deel uitmaakt van de prefrontale cortex en een heterogene groep van functies omvat; de rechter IFG is hoofdzakelijk betrokken bij executieve functies zoals actie inhibitie -en executie, het coördineren van de aandacht en redeneringen en sociaal-cognitieve processen (79,80). Een studie van Kogler et al. (71) toonde de IFG en AI als enige regio's met overlap voor zowel psychosociale als fysiologische stress, wat insinueert dat beide daarnaast deel uitmaken van een algemeen stressantwoord dat cognitieve en affectieve verwerking voor pijnsensaties bewerkstelligt.

Een gedaalde functionele connectie in de Alfafrequentie tussen de IAI en rIFG bij MIST wijst wellicht op een daling van de rem op desbetreffende connectie, gezien van Alfagolven algemeen verondersteld wordt dat deze instaan voor een inhibitorisch controlesysteem (41). Hierdoor zouden de verwerkingsmogelijkheden van beide regio's allicht terug openkomen, wat hierop volgend een stijging in activiteit insinueert. Dit kan de noodzaak voor het brein weerspiegelen om extra middelen te rekruteren teneinde een adequaat antwoord te kunnen bieden op de evaluatieve stress en tijdsdruk opgelegd door het MIST paradigma. Het rekruteren van de rIFG en IAI zou hierbij het verschuiven van de aandacht naar de sociaal opgelegde eisen kunnen weerspiegelen, waarbij een gemotiveerde maximale inspanning wordt geïnitieerd om de rekenoefeningen accuraat op te lossen, weerspiegelt in het aanspreken van respectievelijk de sociaal-cognitieve en intern-cognitieve vaardigheden. Het verschuiven van de aandacht naar de sociaal opgelegde eisen (het halen van minstens 80%

correcte antwoorden) wordt ondersteund door het gegeven dat het IFG/AI complex in kader van cognitieve controle vermoedelijk een rol speelt bij het vertragen van de reactietijd van het individu. Deze temporisering wordt bewerkstelligd om meer nauwkeurige antwoorden te kunnen genereren en toekomstige fouten te voorkomen, in bijzonder wanneer het individu betrokken is bij langdurige en gedetailleerde informatieverwerking (zoals het oplossen van reeksen rekenoefeningen) (81). Een daling in Alfabower zou eveneens een vertraagde en meer nauwkeurige reactie bewerkstelligen, specifiek na het maken van prestatiefouten (82). Dit laatste suggereert dat deze gedragsaanpassing bij participanten tot stand is gekomen na het ontvangen van feedback over incorrecte antwoorden (zie sectie 2.4. voor het MIST protocol).

Een toegenomen Bètaband connectie tussen de rAI en lAI bij Cyberball zou kunnen weerspiegelen dat het negatief sentiment, uitgelokt door de sociale uitsluiting tijdens de exclusiefase, door de rAI als een opvallend (negatief) event gekarakteriseerd werd, waarbij een wisselwerking met de lAI een zelf-reflectieve, affectieve en cognitieve respons verzekerd. De signaalfunctie van de Bètaband tussen deze regio's komt overeen met bevindingen van intracraniële onderzoeken door Billeke et al. (83) en Hauffer et al. (84), waar Bètaband oscillaties in de anterieure insula verantwoordelijk waren voor het communiceren van toestandsveranderingen of voorspellingsfouten (zoals plotse sociale exclusie tijdens het spelen van een balspel). Gezien pathologisch toegenomen Bètaband activiteit overigens vermoed wordt te resulteren in een nefaste persistentie van de cognitieve status (40), zou de toegenomen wisselwerking met de lAI (uitgelokt door psychosociale stress) bij Cyberball eveneens een abnormale aanhouding van het zelf-reflectieve proces kunnen weerspiegelen.

Gezien het insignificante karakter van de resultaten kan weinig conclusief afgeleid worden met betrekking tot bovenstaande discussie. Een toegenomen Bèta activiteit en een gedaalde Alfa activiteit in de frontale regio's, evenals activaties van de insula en inferieure frontale gyrus komen echter overeen met wat in de literatuur is aangetoond voor de psychosociale stressrespons (12,19). Bovendien komen een toegenomen Bètaconnectiviteit voor de anterieure insula en toegenomen activiteit in de inferieure frontale gyrus overeen met onze vooropgestelde hypothese. Deze argumenten wijzen er enigszins op dat, ondanks het ontbreken van statistische significantie, de vermelde observaties waarheidsgetrouwe bevindingen representeren en dat het meedelen van deze een meerwaarde kan betekenen voor toekomstig onderzoek.

5. CONCLUSIE

Het blijft voorlopig onbekend of er een gegeneraliseerde stressrespons te formuleren valt; hoewel psychosociale stressinductie voor dit onderzoek succesvol was, konden weinig conclusieve bevindingen worden geformuleerd met betrekking tot de functionele connectiviteitsveranderingen tussen de onderzochte regio's. Het lijkt echter alsof de linker anterieure insula bij zowel Cyberball als MIST tijdens de stressconditie aangesproken werd als centrale actor en schakelregio voor affectieve en cognitieve verwerking. Gezien Cyberball en MIST echter meermaals tot distinctieve, specifieke effecten leidden dringt de vraag zich op of voor toekomstig onderzoek deze paradigma's en bijhorende onderliggende dimensies van psychosociale stress apart onderzocht dienen te worden. Een bedenking hierbij is echter of mits aanpassing van overige parameters tussen beide paradigma's alsnog een voldoende grote overlap in activatiepatronen gevonden kan worden om een globale psychosociale stressrespons te formuleren. Rekening houdend met de complexiteit van breinonderzoek en de limitaties van EEG als onderzoekstechniek werden voor het behalen van significante resultaten bij toekomstig onderzoek enkele voorstellen gedaan, waarbij het gebruik van krachtigere en meer interpersoonlijk stress-inducerende paradigma's, een grotere studiepoppulatie, het onderzoeken van meer regio's en het eventuele gebruik van individuele MRI-templates de voornaamste aanpassingen zijn om te implementeren. Alles samengenomen lijkt EEG desondanks een veelbelovende techniek om functionele breinnetwerken te bestuderen en is het aan toekomstig onderzoek om zijn waarde hierin te valideren.

Referenties

1. Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Lee S, Ormel J, e.a. The global burden of mental disorders: An update from the WHO World Mental Health (WMH) Surveys. *Epidemiol Psychiatr Soc.* 2009;18(1):23-33.
2. Somers JM, Goldner EM, Waraich P, Hsu L. Prevalence and Incidence Studies of Anxiety Disorders: A Systematic Review of the Literature. *Can J Psychiatry.* 1 februari 2006;51(2):100-13.
3. Liu Q, He H, Yang J, Feng X, Zhao F, Lyu J. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study. *J Psychiatr Res.* 1 juli 2020;126:134-40.
4. Ettman CK, Abdalla SM, Cohen GH, Sampson L, Vivier PM, Galea S. Prevalence of Depression Symptoms in US Adults Before and During the COVID-19 Pandemic. *JAMA Netw Open.* 2 september 2020;3(9):e2019686.
5. Smith K. Mental health: A world of depression. *Nature.* 1 november 2014;515(7526):180-1.
6. Lépine JP, Briley M. The increasing burden of depression. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 31 december 2011;7(sup1):3-7.
7. Haller J, Harold G, Sandi C, Neumann ID. Effects of Adverse Early-Life Events on Aggression and Anti-Social Behaviours in Animals and Humans. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(10):724-38.
8. Daviu N, Bruchas MR, Moghaddam B, Sandi C, Beyeler A. Neurobiological links between stress and anxiety. *Neurobiol Stress.* 1 november 2019;11:100191.
9. Mazure CM. Life stressors as risk factors in depression. *Clin Psychol Sci Pract.* 1998;5(3):291-313.
10. Lazarus RS, Folkman S. *Stress, Appraisal, and Coping.* Springer Publishing Company; 1984. 460 p.
11. More than a feeling_ A unified view of stress measurement for population science | Elsevier Enhanced Reader [Internet].
12. Vanhollenbeke G, De Smet S, De Raedt R, Baeken C, van Mierlo P, Vanderhasselt MA. The neural correlates of psychosocial stress: A systematic review and meta-analysis of spectral analysis EEG studies. *Neurobiol Stress.* 1 mei 2022;18:100452.
13. Dickerson SS, Kemeny ME. Acute Stressors and Cortisol Responses: A Theoretical Integration and Synthesis of Laboratory Research. *Psychol Bull.* 2004;130(3):355-91.
14. von Dawans B, Strojny J, Domes G. The effects of acute stress and stress hormones on social cognition and behavior: Current state of research and future directions. *Neurosci Biobehav Rev.* 1 februari 2021;121:75-88.
15. Pfeifer LS, Heyers K, Ocklenburg S, Wolf OT. Stress research during the COVID-19 pandemic and beyond. *Neurosci Biobehav Rev.* 1 december 2021;131:581-96.
16. Stansfeld S, Candy B. Psychosocial work environment and mental health—a meta-analytic review. *Scand J Work Environ Health.* 2006;32(6):443-62.

17. Siegrist J. Chronic psychosocial stress at work and risk of depression: evidence from prospective studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* november 2008;258(S5):115-9.
18. Godoy LD, Rossignoli MT, Delfino-Pereira P, Garcia-Cairasco N, de Lima Umeoka EH. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2018
19. Berretz G, Packheiser J, Kumsta R, Wolf OT, Ocklenburg S. The brain under stress—A systematic review and activation likelihood estimation meta-analysis of changes in BOLD signal associated with acute stress exposure. *Neurosci Biobehav Rev.* mei 2021;124:89-99.
20. Williams KD, Cheung CKT, Choi W. Cyberostracism: Effects of being ignored over the Internet. *J Pers Soc Psychol.* 2000;79(5):748-62.
21. Cacioppo S, Frum C, Asp E, Weiss RM, Lewis JW, Cacioppo JT. A Quantitative Meta-Analysis of Functional Imaging Studies of Social Rejection. *Sci Rep.* december 2013;3(1):2027.
22. Dedovic K, Renwick R, Mahani NK, Engert V, Lupien SJ, Pruessner JC. The Montreal Imaging Stress Task: using functional imaging to investigate the effects of perceiving and processing psychosocial stress in the human brain. *J Psychiatry Neurosci.* :7.
23. Bressler SL. Large-scale cortical networks and cognition. *Brain Res Rev.* maart 1995;20(3):288-304.
24. Hermans EJ, Henckens MJAG, Joëls M, Fernández G. Dynamic adaptation of large-scale brain networks in response to acute stressors. *Trends Neurosci.* juni 2014;37(6):304-14.
25. Friston KJ. Functional and Effective Connectivity in Neuroimaging: A Synthesis. 1994.
26. Park HJ, Friston K. Structural and Functional Brain Networks: From Connections to Cognition. *Science.* november 2013;342(6158):1238411.
27. Burle B, Spieser L. Spatial and temporal resolutions of EEG: Is it really black and white? A scalp current density view | Elsevier Enhanced Reader [Internet].
28. Baillet S. S. Baillet, J. C. Mosher, and R. M. Leahy, "Electromagnetic brain mapping," *Signal Processing Magazine, IEEE*, vol. 18, no. 6, pp. 14–30, 2001.
29. Michel CM, He B. EEG mapping and source imaging. In: Niedermeyer's *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields: Sixth Edition.* 2012. p. 1179-202.
30. Michel CM, Brunet D. EEG Source Imaging: A Practical Review of the Analysis Steps. *Front Neurol* [Internet]. 2019
31. Michel CM, Murray MM, Lantz G, Gonzalez S, Spinelli L, Grave de Peralta R. EEG source imaging. *Clin Neurophysiol.* 1 oktober 2004;115(10):2195-222.
32. Becker R, Hervais-Adelman A. Resolving the Connectome, Spectrally-Specific Functional Connectivity Networks and Their Distinct Contributions to Behavior. *eNeuro.* 9 september 2020;7(5):ENEURO.0101-20.2020.
33. van den Heuvel MP, Hulshoff Pol HE. Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1 augustus 2010;20(8):519-34.
34. Michel CM, Murray MM. Towards the utilization of EEG as a brain imaging tool. *NeuroImage.* 1 juni 2012;61(2):371-85.

35. Benschop L, Poppa T, Medani T, Shahabi H, Baeken C, Leahy RM, e.a. Electrophysiological scarring in remitted depressed patients: Elevated EEG functional connectivity between the posterior cingulate cortex and the subgenual prefrontal cortex as a neural marker for rumination. *J Affect Disord.* februari 2021;281:493-501.
36. Bastos AM, Schoffelen JM. A Tutorial Review of Functional Connectivity Analysis Methods and Their Interpretational Pitfalls. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2016
37. Mohanty R, Sethares WA, Nair VA, Prabhakaran V. Rethinking Measures of Functional Connectivity via Feature Extraction. *Sci Rep.* 28 januari 2020;10(1):1298.
38. Colclough GL, Woolrich MW, Tewarie PK, Brookes MJ, Quinn AJ, Smith SM. How reliable are MEG resting-state connectivity metrics? *NeuroImage.* 1 september 2016;138:284-93.
39. van Oort J, Tendolkar I, Hermans EJ, Mulders PC, Beckmann CF, Schene AH, e.a. How the brain connects in response to acute stress: A review at the human brain systems level. *Neurosci Biobehav Rev.* 1 december 2017;83:281-97.
40. Engel AK, Fries P. Beta-band oscillations—signalling the status quo? *Curr Opin Neurobiol.* 1 april 2010;20(2):156-65.
41. Jensen O, Mazaheri A. Shaping Functional Architecture by Oscillatory Alpha Activity: Gating by Inhibition. *Front Hum Neurosci* [Internet]. 2010
42. Cohen MX. *Analyzing Neural Time Series Data: Theory and Practice.* MIT Press; 2014. 615 p.
43. Williams KD, Jarvis B. Cyberball: A program for use in research on interpersonal ostracism and acceptance. *Behav Res Methods.* februari 2006;38(1):174-80.
44. Mathôt S, Schreij D, Theeuwes J. OpenSesame: An open-source, graphical experiment builder for the social sciences. *Behav Res Methods.* 1 juni 2012;44(2):314-24.
45. Trestman RL, Coccaro EF, Bernstein D, Lawrence T, Gabriel SM, Horvath TB, e.a. Cortisol responses to mental arithmetic in acute and remitted depression. *Biol Psychiatry.* mei 1991;29(10):1051-4.
46. Mantini D, Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL, Corbetta M. Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. *Proc Natl Acad Sci.* 7 augustus 2007;104(32):13170-5.
47. Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain.* 1 september 1983;17(1):45-56.
48. Tadel F, Bock E, Niso G, Mosher JC, Cousineau M, Pantazis D, e.a. MEG/EEG Group Analysis With Brainstorm. *Front Neurosci* [Internet]. 2019
49. Joshi AA, Choi S, Liu Y, Chong M, Sonkar G, Gonzalez-Martinez J, e.a. A hybrid high-resolution anatomical MRI atlas with sub-parcellation of cortical gyri using resting fMRI. *J Neurosci Methods.* 15 mei 2022;374:109566.
50. Brookes MJ, Woolrich M, Luckhoo H, Price D, Hale JR, Stephenson MC, e.a. Investigating the electrophysiological basis of resting state networks using magnetoencephalography. *Proc Natl Acad Sci.* 4 oktober 2011;108(40):16783-8.
51. Hedrich T, Pellegrino G, Kobayashi E, Lina JM, Grova C. Comparison of the spatial resolution of source imaging techniques in high-density EEG and MEG. *NeuroImage.* 15 augustus

2017;157:531-44.

52. RStudio: integrated development environment for R [Internet].
53. Cronbach LJ. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika*. 1 september 1951;16(3):297-334.
54. Kirschbaum C, Pirke KM, Hellhammer D. The 'Trier Social Stress Test' – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a Laboratory Setting. *Neuropsychobiology*. 1 februari 1993;28:76-81.
55. Bozovic D, Racic M, Ivkovic N. Salivary Cortisol Levels as a Biological Marker of Stress Reaction. *Med Arch*. 2013;67:374.
56. Henrich J, Heine SJ, Norenzayan A. Most people are not WEIRD. *Nature*. juli 2010;466(7302):29-29.
57. Stroud LR, Salovey P, Epel ES. Sex differences in stress responses: social rejection versus achievement stress. *Biol Psychiatry*. 15 augustus 2002;52(4):318-27.
58. Verma R, Balhara YPS, Gupta CS. Gender differences in stress response: Role of developmental and biological determinants. *Ind Psychiatry J*. 2011;20(1):4-10.
59. Rausch SM, Auerbach SM, Gramling SE. Gender and Ethnic Differences in Stress Reduction, Reactivity, and Recovery. *Sex Roles*. 1 november 2008;59(9):726-37.
60. Allen MT, Matthews KA. Hemodynamic responses to laboratory stressors in children and adolescents: The influences of age, race, and gender. *Psychophysiology*. 1997;34(3):329-39.
61. Wang J, Kordzykowski M, Rao H, Fan Y, Pluta J, Gur RC, e.a. Gender difference in neural response to psychological stress. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 1 september 2007;2(3):227-39.
62. Sapolsky RM. Individual differences and the stress response. *Semin Neurosci*. 1 augustus 1994;6(4):261-9.
63. Korzan WJ, Summers CH. Evolution of stress responses refine mechanisms of social rank. *Neurobiol Stress*. 1 mei 2021;14:100328.
64. Sex Differences in Stress Response Circuitry Activation Dependent on Female Hormonal Cycle | *Journal of Neuroscience* [Internet].
65. Lundberg U. Stress hormones in health and illness: The roles of work and gender. *Psychoneuroendocrinology*. 1 november 2005;30(10):1017-21.
66. Burns SM, Barnes LN, McCulloh IA, Dagher MM, Falk EB, Storey JD, e.a. Making social neuroscience less WEIRD: Using fNIRS to measure neural signatures of persuasive influence in a Middle East participant sample. *J Pers Soc Psychol*. 2019;116(3):e1-11.
67. van den Broek SP, Reinders F, Donderwinkel M, Peters MJ. Volume conduction effects in EEG and MEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1 juni 1998;106(6):522-34.
68. Brenner RP, Schaul N. Periodic EEG Patterns: Classification, Clinical Correlation, and Pathophysiology. *J Clin Neurophysiol*. april 1990;7(2):249.
69. Dedovic K, D'Aguiar C, Pruessner JC. What Stress Does to Your Brain: A Review of Neuroimaging Studies. *Can J Psychiatry*. 1 januari 2009;54(1):6-15.
70. Wang H, Braun C, Enck P. How the brain reacts to social stress (exclusion) – A scoping review. *Neurosci Biobehav Rev*. 1 september 2017;80:80-8.

71. Kogler L, Müller VI, Chang A, Eickhoff SB, Fox PT, Gur RC, e.a. Psychosocial versus physiological stress — Meta-analyses on deactivations and activations of the neural correlates of stress reactions. *NeuroImage*. 1 oktober 2015;119:235-51.
72. Seeber M, Cantonas LM, Hoevels M, Sesia T, Visser-Vandewalle V, Michel CM. Subcortical electrophysiological activity is detectable with high-density EEG source imaging. *Nat Commun*. 14 februari 2019;10(1):753.
73. Bennett CM, Miller MB, Wolford GL. Neural correlates of interspecies perspective taking in the post-mortem Atlantic Salmon: an argument for multiple comparisons correction. *NeuroImage [Internet]*. 1 juli 2009
74. Loring DW, Meador KJ, Allison JD, Pillai JJ, Lavin T, Lee GP, e.a. Now you see it, now you don't: statistical and methodological considerations in fMRI. *Epilepsy Behav*. 1 december 2002;3(6):539-47.
75. Valdés-Hernández PA, von Ellenrieder N, Ojeda-Gonzalez A, Kochen S, Alemán-Gómez Y, Muravchik C, e.a. Approximate average head models for EEG source imaging. *J Neurosci Methods*. 15 december 2009;185(1):125-32.
76. Namkung H, Kim SH, Sawa A. The insula: an underestimated brain area in clinical neuroscience, psychiatry, and neurology. *Trends Neurosci*. april 2017;40(4):200-7.
77. Clos M, Rottschy C, Laird AR, Fox PT, Eickhoff SB. Comparison of structural covariance with functional connectivity approaches exemplified by an investigation of the left anterior insula. *NeuroImage*. 1 oktober 2014;99:269-80.
78. Eckert MA, Menon V, Walczak A, Ahlstrom J, Denslow S, Horwitz A, e.a. At the heart of the ventral attention system: The right anterior insula. *Hum Brain Mapp*. 15 december 2008;30(8):2530-41.
79. Hartwigsen G, Neef NE, Camilleri JA, Margulies DS, Eickhoff SB. Functional Segregation of the Right Inferior Frontal Gyrus: Evidence From Coactivation-Based Parcellation. *Cereb Cortex*. 1 april 2019;29(4):1532-46.
80. Hampshire A, Chamberlain SR, Monti MM, Duncan J, Owen AM. The role of the right inferior frontal gyrus: inhibition and attentional control. *NeuroImage*. 15 april 2010;50(3):1313-9.
81. Tops M, Boksem M. A Potential Role of the Inferior Frontal Gyrus and Anterior Insula in Cognitive Control, Brain Rhythms, and Event-Related Potentials. *Front Psychol [Internet]*. 2011
82. Carp J, Compton RJ. Alpha power is influenced by performance errors. *Psychophysiology*. 2009;46(2):336-43.
83. Billeke P, Ossandon T, Perrone-Bertolotti M, Kahane P, Bastin J, Jerbi K, e.a. Human Anterior Insula Encodes Performance Feedback and Relays Prediction Error to the Medial Prefrontal Cortex. *Cereb Cortex*. 1 juni 2020;30(7):4011-25.
84. Haufler D, Liran O, Buchanan RJ, Pare D. Human anterior insula signals salience and deviations from expectations via bursts of beta oscillations. *J Neurophysiol*. juli 2022;128(1):160-80.