UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Biomarcadores de salud cerebral medidos con estimulación magnética transcraneal combinada con electroencefalografía y electromiografía

MARÍA REDONDO CAMÓS

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons: https://creativecommons.org/licenses/?lang=es

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license: https://creativecommons.org/licenses/?lang=en

Universitat Autònoma de Barcelona

Programa de Doctorado en Medicina, Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

Biomarcadores de salud cerebral medidos con estimulación magnética transcraneal combinada con electroencefalografía y electromiografía

MARÍA REDONDO CAMÓS

Directores de tesis:

DAVID BARTRÉS FAZ

JOSEP MARÍA TORMOS MUÑOZ

Tutor de tesis:

JAUME ALIJOTAS REIG

Barcelona, 2023

Agradecimientos

La presente tesis doctoral no habría sido posible sin el apoyo del Institut Guttmann y su Departamento de Investigación. Gracias a ellos, pude unirme y participar en el proyecto «Barcelona Brain Health Initiative».

A todos los voluntarios del BBHI; sin vosotros, esta investigación no tendría sentido.

A mis directores, el Prof. David Bartrés y el Dr. Josep M.ª Tormos, por su confianza y guía en estos cinco años.

Al Dr. Gabriele Cattaneo, por su ayuda durante la tesis doctoral.

A Selma, Goretti, Javier, Pili, Alba, Rubén, Catherine, Edgar y Sergiu, con quienes hemos formado un gran equipo y, sin cuya gran labor, sería irrepetible esta experiencia.

A Vanessa, amiga y referente durante todo este camino. Gracias por tus consejos y paciencia.

Todo esto no habría sido posible sin mi familia, especialmente gracias a mis abuelos, mis hermanos, Kiko y Álvaro, y a Pablo, que me han cuidado tanto y me han dado cariño infinito.

Y, finalmente, a mis padres, Bea y Pitti. Los mejores, y mi mayor ejemplo. Por vuestro amor incondicional, paciencia y, sobre todo, por enseñarme el valor del esfuerzo, y no dejarme rendir. Os quiero. Sin vosotros, no habría llegado al fin de esta tesis doctoral.

Índice de abreviaturas

BBHI	Barcelona Brain Health Initiative
EA	Enfermedad de Alzheimer
EEG	Electroencefalografía
E/I	Excitatorio e inhibitorio
EMG	Electromiografía
EMT	Estimulación magnética transcraneal
EMT-EEG	Estimulación magnética transcraneal combinada con electroencefalografía
EMT-EMG	Estimulación magnética transcraneal combinada con electromiografía
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GMFP	Global Mean Field Power
LICI	Inhibición intracortical de largo intervalo
LMFP	Local Mean Field Power
M	Promedio
M1	Corteza motora primaria
NfL	Cadena ligera de neurofilamentos en plasma
PEM	Potencial evocado motor
RAVLT	Test de aprendizaje auditivo verbal de Rey
SD	Desviación estándar
S-FNAME	Spanish Version of the Face Name Associative Memory Exam
SNC	Sistema nervioso central
TMT	Trail Making Test
UM	Umbral motor en reposo
WAIS-IV	Escala de inteligencia de Wechsler para adultos IV

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. El cerebro 19

Ilustración 2. Potencial de acción 20

Ilustración 3. Experimento de Ørsted (1820) 24

Ilustración 4. Experimento de Faraday (1831) 25

Ilustración 5. Circuito (A) y componentes (B) EMT 26

Ilustración 6. Corriente eléctrica inducida por la bobina en forma de ocho 27

Ilustración 7. Métodos de selección del punto de estimulación 29

Ilustración 8. Logo proyecto BBHI 38

Índice

Resumen **11**

Abstract **13**

1. INTRODUCCIÓN **15**

1.1. Contextualización de la tesis 17
1.2. Bases neurofisiológicas 18
1.2.1. El sistema nervioso central 18
1.2.2. La neurona 19
1.2.3. La organización neuronal 21
1.3. Excitabilidad cortical 22
1.3.1. Estimulación magnética transcraneal 23
1.3.2. Combinación de herramientas 30
1.4. Las funciones cognitivas y su evaluación 31
1.4.1. Atención y velocidad de procesamiento 32
1.4.2. Flexibilidad cognitiva 33
1.4.3. Memoria de trabajo 34
1.4.4. Razonamiento 35
1.4.5. Memoria 35
1.5. Relación entre excitabilidad cortical y cognición 36
1.6. Justificación de la tesis 38

2. HIPÓTESIS **41**

3. OBJETIVOS **45**

4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES **49**

4.1. Artículo 1 51
4.2. Artículo 2. 63

5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS **87**

6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN **93**

7. CONCLUSIONES **103**

8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN **107**

9. BIBLIOGRAFÍA..... 111

10. ANEXO..... 131

10.1. Financiación 133

Resumen

El mantenimiento de la salud cerebral es cada vez más importante en la población española, donde la esperanza de vida aumenta. A lo largo del tiempo, la corteza cerebral experimenta cambios, por lo que encontrar y caracterizar potenciales marcadores biológicos podría ayudar en la preservación de la salud del cerebro. Entre ellos, la excitabilidad cortical ha mostrado ser muy relevante para el funcionamiento cerebral y la cognición, y tanto la excitabilidad en M1 como la de la corteza prefrontal se han relacionado con las funciones cognitivas en población clínica. Sin embargo, es necesario profundizar en personas adultas cognitivamente sanas.

El objetivo principal de este estudio fue caracterizar nuevos marcadores de salud cerebral mediante la aplicación de EMT en la corteza prefrontal y motora, y mejorar la comprensión sobre los mecanismos de cognición en la población adulta sana.

Se planteó un primer estudio donde se quiso explorar si existía una relación entre el equilibrio excitatorio e inhibitorio en la corteza motora primaria (medido con el UM y el LICI) y las funciones cognitivas (atención, memoria episódica, memoria de trabajo y razonamiento). En segundo lugar, también se examinó cómo podía impactar el género en dichos resultados. Con esta finalidad, se utilizó una muestra de 97 adultos cognitivamente sanos y de mediana edad (entre 41 y 65 años). Se demostró que, al aplicar un protocolo de pulsos apareados EMT sobre la corteza motora izquierda, la inhibición intracortical estaba positivamente asociada con la memoria de trabajo. Asimismo, cuando se segmentó la muestra por género, en el grupo de hombres se obtuvo una relación con la memoria de trabajo, el razonamiento y la cognición global. En ningún caso fue posible describir una asociación significativa entre la medida de UM y la cognición. Todos los análisis se realizaron mediante regresiones múltiples multivariadas, y en aquellos modelos cuyos resultados fueron significativos se ejecutaron regresiones múltiples lineares para valorar la dirección de la predicción. En cada modelo se incluyó la función cognitiva como variable dependiente, y LICI, UM, amplitud MEP, edad, género y educación como regresores.

En el segundo estudio se quiso relacionar la excitabilidad de la región prefrontal, después de aplicar EMT sobre la misma (medido con LMFP y GMFP), y las funciones cognitivas mencionadas anteriormente. Se utilizó la región parietal como condición de control, para probar si las asociaciones eran específicas de la corteza prefrontal. Como objetivo secundario, se valoró si dicha posible relación era independiente al daño axonal (medido mediante NfL en plasma). Para ello, se empleó una muestra de 52 personas cognitivamente sanas y de mediana edad (entre 41 y 65 años). Se obtuvo evidencia de que existía una relación positiva entre la excitabilidad local en la corteza prefrontal (medida después de la estimulación) con la memoria de trabajo y el razonamiento. Además, se demostró una correlación directa significativa entre el nivel de NfL y las funciones cognitivas, aunque dicho efecto desaparecía al controlar por la edad, por lo que se ha demostrado que el daño axonal de cada individuo no juega un papel relevante en las

asociaciones entre la excitabilidad cortical prefrontal y la cognición. Se aplicaron regresiones multivariadas para cada región de estimulación (corteza prefrontal y parietal), y en cada modelo se utilizaron las funciones cognitivas como variables dependientes y el «tipo de campo eléctrico», el método utilizado en la selección de coordenadas (anatómico o funcional), el nivel de NfL, la edad, el género y los años educativos como regresores.

En conclusión, se describieron dos posibles marcadores biológicos de salud cerebral en una población de mediana edad cognitivamente sana con EMT: la inhibición intracortical motora (medida con LICI) y la excitabilidad prefrontal (medida con LMFP). Estos resultados brindarían una mejor comprensión del vínculo entre la neurofisiología y la cognición, y podrían ser objetivos potenciales para el desarrollo de intervenciones que ayuden a monitorear o mantener la salud del cerebro y, por lo tanto, la función cognitiva. Si estos marcadores mostraran cambios, podríamos sugerir programas que modularan la actividad cerebral usando EMT u otras herramientas neuromoduladoras para revertir dichos cambios.

Abstract

Maintaining brain health is increasingly important in the Spanish population, where life expectancy is increasing. Over time, the cerebral cortex undergoes changes, so finding and characterizing potential biomarkers could help in the preservation of brain health. Among them, cortical excitability has been shown to be very relevant for brain functioning and cognition, and both M1 and prefrontal cortex excitability have been related to cognitive functions in clinical population. Nevertheless, there is a need to further investigate in cognitively healthy adults.

The main objective of this study was to characterize new markers of brain health by applying TMS to the prefrontal and motor cortex, and to improve understanding of the mechanisms of cognition in the healthy adult population.

A first study aimed to explore whether there was a relationship between excitatory and inhibitory balance in the primary motor cortex (measured with the RMT and LICI) and cognitive functions (attention, episodic memory, working memory, and reasoning). Secondarily, we also examined how gender might impact these outcomes. To this end, a sample of 97 cognitively healthy, middle-aged adults (aged 41-65 years) was used. It was shown that when applying a paired-pulse TMS protocol over the left motor cortex, intracortical inhibition was positively associated with working memory. Likewise, when the sample was segmented by gender, in the male group, a relationship with working memory, reasoning and global cognition was obtained. In no case was it possible to describe a significant association between the RMT measure and cognition. All analyses were performed using multivariate multiple regressions, and in those models whose results were significant, linear multiple regressions were run to assess the direction of prediction. In each model, cognitive function was included as the dependent variable, and LICI, RMT, MEP amplitude, age, gender, and education as regressors.

In the second study we wanted to relate the excitability of the prefrontal region, after applying TMS to it (measured with LMFP and GMFP), and the cognitive functions mentioned above. The parietal region was used as a control condition to test whether the associations were specific to the prefrontal cortex. As a secondary objective, we assessed whether this possible relationship was independent of axonal damage (measured by plasma NfL). For this purpose, a sample of 52 cognitively healthy, middle-aged (between 41 and 65 years) individuals was used. Evidence was obtained that there was a positive relationship between local excitability in the prefrontal cortex (measured after stimulation) with working memory and reasoning. In addition, a significant direct correlation between NfL level and cognitive functions was demonstrated, although this effect disappeared when controlling for age, thus demonstrating that individual axonal damage does not play a relevant role in the associations between prefrontal cortical excitability and cognition. Multivariate regressions were applied for each stimulation region (prefrontal and parietal cortex), and in each model cognitive functions were used as dependent variables, and

"electric field type", the method used in coordinate selection (anatomical or functional), NfL level, age, gender, and educational years as regressors.

In conclusion, two potential biomarkers of brain health in a cognitively healthy middle-aged population with TMS were described: motor intracortical inhibition (measured with LICI) and prefrontal excitability (measured with LMFP). These results would provide a better understanding of the link between neurophysiology and cognition and could be potential targets for the development of interventions to help monitor or maintain brain health, and thus cognitive function. If these markers were to show changes, we could suggest programs that modulate brain activity using TMS or other neuromodulatory tools to reverse such changes.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Contextualización de la tesis

La esperanza de vida en la población española cada vez es más alta. Concretamente, en 2021 se registró una media de 83,1 años (1). Lograr dicha longevidad, y hacerlo con la mejor salud y calidad de vida, se ha convertido en un reto para nuestra sociedad actual (2–4). Además, el envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurológicas y cardiovasculares en los países industrializados (5). En 2019 se registraron 57,4 millones de casos de demencia a nivel mundial, y se estimó que en 2050 habría 152,8 millones. A su vez, el coste socioeconómico destinado a tratar dichas patologías es cada vez más elevado (6). Ante necesidad de recursos, ya en 1979, Antonovsky expuso un posible descuido social. En su artículo cuestionaba si el sistema invertía de la misma forma en mejorar la salud de aquellas personas que se mantenían sanas pese a la edad. Hasta entonces, el enfoque sanitario seguía el modelo patogénico que definía salud como la ausencia de enfermedad, y se centraba únicamente en conocer en profundidad la patología —características, causas y posibles intervenciones (7–10)—. Antonovsky propuso el modelo salutogénico (o salutogénesis) donde evitaba hacer una dicotomía entre personas enfermas y sanas, ya que entendía la salud «normal» como un movimiento continuo entre estar sano y enfermo, y donde el objetivo era alcanzar la mayor calidad de vida posible (11). Dicho enfoque se basaba en priorizar la creación y promoción de salud en la investigación y práctica clínica, a través de facilitar la adaptación positiva a las situaciones de la vida (por ejemplo, cambios en el trabajo) o centrarse en factores saludables (10,11). Aunque hoy en día aún nos encontramos en una fase intermedia entre el modelo patogénico y el salutogénico (11), este último podría ser fundamental tanto para la promoción de la salud cerebral como de nuevas investigaciones sobre esta.

Siguiendo la misma línea, recientemente la salud cerebral se ha definido como «la preservación óptima de la integridad cerebral, la función mental y cognitiva de acuerdo con la edad, en ausencia de enfermedades cerebrales evidentes que afecten a la función cerebral normal» (12). En este contexto, el mantenimiento de la integridad cerebral a lo largo de la vida podría estar relacionado, entre otros mecanismos, con la conservación de la plasticidad, definida como la capacidad intrínseca del sistema nervioso de modificar su estructura y función durante la vida (13).

Más de dos décadas de investigación biomédica han sido necesarias para entender mejor estos mecanismos y así detectar de forma eficaz alteraciones en etapas muy tempranas. No obstante, siguen siendo fundamentales estudios longitudinales como el Barcelona Brain Health Initiative (BBHI) (4,14), centrados en explorar los posibles factores que intervienen en el mantenimiento de la salud cerebral a lo largo de la adultez de mediana edad (entre 40 y 65 años) y encontrar biomarcadores tempranos de cambios en salud cerebral.

Los marcadores biológicos (biomarcadores) son medidas objetivas y evaluables, indicativas de procesos biológicos normales, patológicos o que responden a intervenciones farmacológicas o

terapéuticas (15). Algunos ejemplos podrían ser la presión arterial o el nivel de colesterol para la medición del riesgo cardiovascular. La identificación de los biomarcadores, por tanto, no solamente es relevante en poblaciones con patologías instauradas, sino también en personas adultas sanas que no las han desarrollado (2). En la enfermedad de Alzheimer (EA), por ejemplo, se han descrito los primeros cambios orgánicos cerebrales dos décadas antes de presentar la sintomatología (16,17). Esto expone la necesidad de profundizar en las características y cambios que experimenta la corteza cerebral en la etapa preclínica e identificar biomarcadores para poder desarrollar programas preventivos de detección y diseñar intervenciones tempranas para la preservación de la salud cerebral.

En este sentido, las pruebas exploratorias como la neuroimagen o la neurofisiología pueden ayudar a establecer biomarcadores de salud cerebral que se puedan relacionar con la función cognitiva. Concretamente, la estimulación magnética transcraneal (EMT) permite activar de forma no invasiva la corteza cerebral y medir la respuesta evocada en un músculo periférico o en la misma corteza mediante electromiografía (EMG) y electroencefalografía (EEG), respectivamente (18–21). Estas técnicas registran la excitabilidad cortical de regiones motoras y no motoras, una medida relacionada con la función neurotransmisora y que podría ser relevante para un buen funcionamiento cognitivo (22-26). Existen numerosos estudios centrados en la excitabilidad cortical del cerebro patológico (27–31), pero la literatura de este tipo de medidas en pacientes sanos es limitada. Investigar la relación de la excitabilidad con la cognición del cerebro sano sería importante para obtener una caracterización de normalidad en este tipo de población.

1.2. Bases neurofisiológicas

1.2.1. El sistema nervioso central

El sistema nervioso central (SNC) es responsable de percibir y recoger la información sensorial del entorno y del medio interno, procesarla e integrarla, elaborando una respuesta adecuada que pueda favorecer la supervivencia (32).

Estructuralmente, el SNC está formado por el encéfalo y la médula espinal. El cerebro es el encargado de controlar todas las acciones del cuerpo, y se encuentra dividido en tres partes (ver Ilustración 1) (33):

1. Prosencéfalo: constituido por los hemisferios cerebrales y el diencéfalo (tálamo e hipotálamo).
2. Mesencéfalo: compuesto por la sección más craneal del tronco encefálico.
3. Rombencéfalo: formado por el cerebelo y las dos partes del tronco encefálico (protuberancia y bulbo raquídeo).

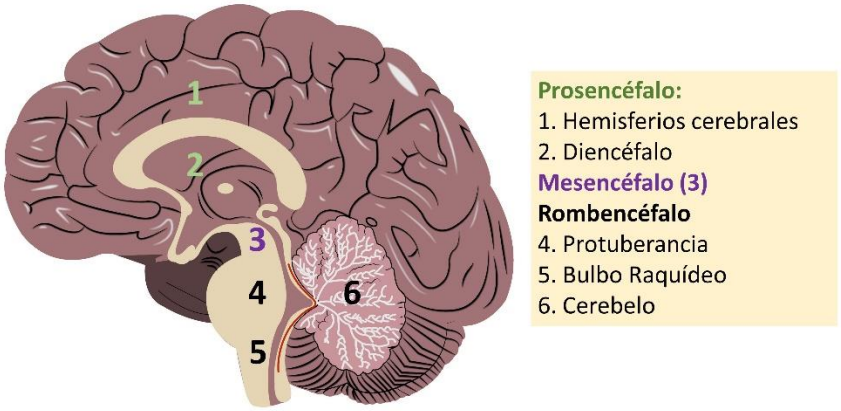

Ilustración 1. El cerebro

Los hemisferios cerebrales, situados a ambos lados del cerebro y conectados por el cuerpo calloso, reciben y controlan sensorial y motrizmente el hemicuerpo contralateral, mediante la decusación de las vías nerviosas en el bulbo raquídeo o en la médula espinal. En su interior, poseen estructuras como los ganglios basales, el hipocampo y el núcleo amigdalino. Externamente, los recubre una capa de sustancia gris llamada corteza cerebral o córtex que, con sus circunvoluciones y surcos, delimita cuatro lóbulos cerebrales (frontal, parietal, temporal y occipital) (33).

1.2.2. La neurona

La neurona es la célula especializada en la conducción y transmisión de señales eléctricas en el sistema nervioso. Es la unidad funcional básica de este sistema y presenta excitabilidad eléctrica; su principal función es recibir y transmitir información mediante la propagación de impulsos nerviosos. Anatómicamente, se puede diferenciar en tres partes: 1) el cuerpo o soma neuronal, que contiene un núcleo en su interior con material genético, 2) una prolongación que surge del cuerpo denominada axón, y 3) pequeñas ramificaciones o dendritas que cobran importancia en la comunicación neuronal (34). Además, como toda célula, está delimitada y recubierta por una membrana plasmática que permite tener propiedades electrolíticas distintas al líquido extracelular (acumulación de aniones en su interior y de cationes en su exterior). Dichas características vienen determinadas según la diferencia de gradiente electroquímico, así como por la permeabilidad de la membrana a estas concentraciones iónicas. En estado de reposo, el voltaje o potencial de membrana es de aproximadamente –70 mV, manteniéndose y regulándose mediante intercambio iónico (35).

El potencial de acción es una onda de actividad eléctrica generada en la neurona, que permite alterar el potencial de membrana en reposo de las células nerviosas y, de esta manera, transmitir la señal a lo largo del axón. Principalmente, presenta tres fases: la de despolarización, donde el estímulo produce una disminución de la carga negativa del potencial de membrana, la de repolarización, en la que se produce el efecto contrario, aumentando la carga negativa de la célula,

y la de hiperpolarización, donde se regresa al potencial de membrana basal (ver Ilustración 2). Además, el potencial de acción se rige por el principio de *todo o nada*, es decir, independientemente de la magnitud del estímulo que llegue a la neurona, se generará y propagará un potencial similar en forma y amplitud. Sin embargo, un estímulo intenso se codificará en mayor frecuencia de potenciales de acción, todo ello siempre y cuando el sumatorio total de los voltajes supere el potencial umbral (nivel de potencial de membrana mínimo necesario para que se desarrolle un potencial de acción, aproximadamente –50 mV) (34,35).

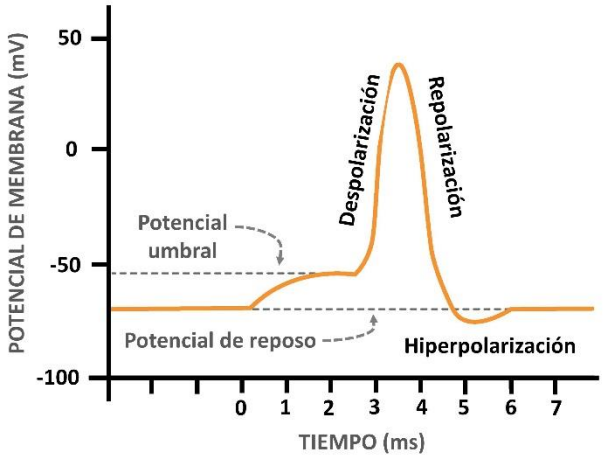

Ilustración 2. Potencial de acción

Una vez el potencial de acción transcurre por el axón en un mismo sentido, este llega al terminal axónico de la célula presináptica (emisora) donde a través de las sinapsis (unión entre neuronas) se transmite la señal a la célula postsináptica (receptora). La sinapsis puede ser eléctrica (caracterizada por uniones de hendidura, la menos común) o química (separada por el espacio sináptico y distinguida por la liberación de sustancias químicas, llamadas neurotransmisores, y su posterior unión con receptores específicos de membrana) (34,35).

Existe gran variedad de neurotransmisores cuyas propiedades químicas, junto al carácter del receptor, permiten la despolarización (excitación) o hiperpolarización (inhibición) de la célula postsináptica. Entre los principales excitatorios se encuentran la acetilcolina, partícipe en la contracción muscular; el glutamato, implicado en la excitabilidad neuronal y los procesos de transmisión y plasticidad sináptica; la dopamina, implicada en la coordinación del movimiento, la motivación y el refuerzo emocional; la noradrenalina, que interviene en la atención, sueño y vigilia, entre otras sustancias (adrenalina, serotonina, histamina, etc.). Asimismo, los inhibidores más conocidos son el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la glicina, abundantes en el encéfalo y la médula espinal (34). GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC, y se sintetiza gracias a la acción de la enzima ácido glutámico descarboxilasa que provoca la conversión del glutamato a GABA (34). Además, los neurotransmisores GABA pueden unirse sinápticamente a diferentes tipos de receptores, que participan en la inhibición rápida (GABA-A y GABA-C) o

lenta (GABA-B) (34). El receptor GABA-B se encuentra unido a una proteína G, que al interaccionar con GABA inhibe la actividad neuronal de dos formas posibles: 1) induciendo un potencial postsináptico inhibitorio más lento (mediante la activación de los canales de potasio postsinápticos), 2) suprimiendo la liberación presináptica de neurotransmisores (mediante el bloqueo de los canales de calcio presinápticos) (34,36). GABA se encuentra involucrada en la regulación de la actividad cerebral y la plasticidad neuronal, y es fundamental en el procesamiento de la información y la función cognitiva normal (36,37). También, es responsable de inhibir señales motoras no deseadas, mantener la frecuencia respiratoria y ayudar a integrar información sensorial (38).

A su vez, las neuronas también pueden clasificarse según las características estructurales y funcionales. En primer lugar, la estructura de la neurona puede variar en tamaño, forma y número de dendritas, existiendo neuronas multipolares (varias dendritas y un axón), bipolares (una dendrita principal y un axón) y unipolares (única dendrita que ejerce como axón) (35). Según la función, se pueden clasificar como neuronas aferentes (transportadoras de información hacia el SNC), eferentes (que envían los datos hacia el sistema nervioso periférico) o interneuronas, también llamadas de circuito local (actúan entre las neuronas aferentes y las eferentes) (34).

1.2.3. La organización neuronal

La organización neuronal es esencial para un correcto procesamiento de la información (39). Las células nerviosas no actúan individualmente, sino que se conectan específicamente en circuitos neuronales que procesan datos concretos, fundamentales para la sensación, percepción y conducta. A su vez, los circuitos se agrupan funcionalmente componiendo sistemas dentro del sistema nervioso (sensitivo, motor y asociativo) que procesan tipos específicos de información. El sistema sensitivo recoge y procesa la información del entorno, el sistema motor genera movimientos y acciones en respuesta a la información recogida sensitivamente, y finalmente, el sistema asociativo conecta las partes sensitiva y motora, integrando ambas, y es la base para las funciones cognitivas. Toda esta organización es posible gracias a un correcto mantenimiento estructural del tejido nervioso, llevado a cabo por las células gliales o de soporte (34).

El mayor número de neuronas del encéfalo se encuentra en el córtex. Concretamente, la neocorteza (área más desarrollada filogenéticamente) está compuesta por seis capas paralelas a la superficie que forman el grosor cortical. Cada lámina contiene concentraciones celulares que, por sus diferencias en cantidad, densidad, tamaño o forma, presentan aferencias, eferencias, y conexiones horizontales y verticales con otras estructuras como el tálamo, el hipocampo o el tronco encefálico (34). La neocorteza está formada por diferentes regiones entre las que se encuentran la corteza motora primaria (situada en la circunvolución precentral y fundamental para el control voluntario) y la somatosensitiva primaria (localizada en el giro postcentral y necesaria para procesar la información sensitiva). De igual manera, es importante la corteza de asociación, definida como todas aquellas áreas cerebrales que no son primariamente motoras o sensitivas, y cuya función principal es la de integrar la información de otras regiones, y sostener

los procesos cognitivos característicos del ser humano (atención, memoria, razonamiento, entre otros). Algunas áreas cerebrales de la corteza de asociación son la corteza parietal (encargada de atender y de ser consciente de los estímulos que actúan sobre el cuerpo), la temporal (permite reconocer e identificar la naturaleza de dicha información sensitiva), y la frontal (planifica las respuestas conductuales apropiadas ante la información sensitiva o ante un recuerdo, y las adapta a las demandas particulares de cada situación) (34).

En definitiva, el cerebro necesita una correcta organización, integración y comunicación no solo a nivel neuronal sino de todas y cada una de sus estructuras, para procesar información, generar actividad cerebral y funcionar óptimamente.

1.3. Excitabilidad cortical

La excitabilidad cortical se ha definido como la relación existente entre la fuerza de un estímulo y la respuesta que conlleva (40), o más específicamente como la facilidad con la que una neurona o agrupamiento neuronal produce un potencial de acción (41). Fundamentalmente, depende de la interacción entre la excitación y la inhibición (40).

Las redes y sistemas neuronales que forman el cerebro, como los circuitos prefrontales y motores, parecen necesitar sustancialmente de un equilibrio excitatorio e inhibitorio (E/I) constante y establecido, coordinado por *inputs* a nivel neuronal (42). Dicho equilibrio es fundamental para el correcto funcionamiento cerebral, la conectividad entre sus regiones y la cognición (26). En consecuencia, presentar una alteración de la excitabilidad en una región cerebral podría modificar el patrón de conexiones, y, por tanto, modificar funciones o conductas compartidas, que pueden ocasionar déficit motor o cognitivo (43,44). Algunas enfermedades neurológicas y psiquiátricas que presentan un desequilibrio E/I en distintas áreas corticales son (45): la EA (30), la depresión (46,47), la esquizofrenia (48), el trastorno del espectro autista (49) o el trastorno obsesivo-compulsivo (50).

El desequilibrio E/I suele aparecer representado como una hiperexcitabilidad cortical, que podría deberse tanto a un déficit de la función inhibitoria como a un incremento en la excitación intracortical. Por ejemplo, en la EA se ha relacionado una hiperexcitabilidad a nivel prefrontal (51) y motor (51–56) con una peor cognición. En población sana, existen pocos estudios que exploren el estado de la excitabilidad en diferentes regiones cerebrales, así como su posible asociación con el rendimiento cognitivo (23,24).

En el estudio de la excitabilidad cortical es necesario tener en cuenta algunos factores individuales, entre los que se encuentran:

- Edad: el envejecimiento se ha asociado a cambios en la estructura cerebral (57). Existe una disminución del grosor cortical o atrofia del área prefrontal (58) relacionadas a déficits de atención y funciones ejecutivas (22,59). Estas variaciones podrían afectar a la

excitabilidad, ya que un menor grosor cortical (60) y más edad se han relacionado con mayor excitación cortical. Asimismo, este factor también podría influir en la inhibición (47,61–63), aunque el grado de preservación de los circuitos GABA aún no se ha definido completamente en población adulta sana (64).

Por otro lado, los cambios bioquímicos debidos a la edad, así como la acumulación de proteínas Tau o cadena ligera de neurofilamentos en plasma (neurofilamentos, NfL), también podrían modular los cambios en la excitabilidad (65). Los NfL miden el daño neuroaxonal y la neurodegeneración (66). Es una medida que, aunque no específica de una región cerebral, se ha asociado al deterioro cognitivo entre adultos mayores en fase preclínica de EA (67) y podría serlo en adultos sanos de mediana edad (68).

- Género: la anatomía cerebral, así como su conectividad, es diferente entre hombres y mujeres, y podría llevar a distintos procesos neuronales y, en consecuencia, formas de procesar la información y comportarse (69,70). Algunas razones podrían ser las individualidades genéticas, las concentraciones hormonales, y los hábitos de vida que se han ido creando según el género (actividad física, alcohol o tabaco) (70,71). En particular, las mujeres presentan altos niveles de hormonas esteroideas, previamente relacionadas con la neurotransmisión inhibitoria (70,72).
- Medicación: algunos fármacos, como por ejemplo los ansiolíticos, los antipsicóticos, los antidepresivos o los anticonvulsivos, pueden alterar el SNC, concretamente la excitabilidad y la plasticidad neuronal. Es relevante tenerlo en cuenta ya que podría modificar el umbral de crisis epiléptica (73,74).
- Bebidas estimulantes o sustancias tóxicas: diversos estudios han sugerido que la cafeína (75), el alcohol (76) o el tabaco (77,78) podrían influir en la excitabilidad cortical.

Como se ha comentado anteriormente, la investigación de la excitabilidad cortical se puede realizar mediante el uso de herramientas de neurofisiología como la EMT, la EEG y la EMG.

1.3.1. Estimulación magnética transcraneal

La estimulación magnética transcraneal (EMT) es una técnica no invasiva e indolora que no requiere de electrodos para su utilización. Según el protocolo de pulsos aplicado, puede utilizarse para la valoración y/o la modulación de la excitabilidad cortical. El término «transcraneal» puede crear confusión, ya que esta herramienta puede utilizarse tanto en el SNC como en el sistema periférico, siendo la estimulación cerebral el foco de este trabajo.

Entre sus principales aplicaciones se encuentran: 1) estudiar las interacciones intracorticales, cortico-corticales y cortico-subcorticales, 2) permitir ahondar en el estudio de las relaciones de causalidad cerebro-conducta en humanos, y 3) examinar el estado neurofisiológico de las enfermedades neurológicas y psiquiátricas (79).

A. Antecedentes históricos

La electricidad y el magnetismo, dos fenómenos que en un inicio no se creían relacionados entre sí, fueron ampliamente estudiados en el siglo XIX. En 1820, Hans Christian Ørsted, con su experimento de la aguja imantada, demostró que existía un vínculo entre ambos (ver Ilustración 3). En este, un material conductor se colocaba cerca de una aguja imantada, y mediante la ayuda de una batería se aplicaba corriente. Al encender y apagar el interruptor, la aguja se movía, probando que existía un campo magnético originado por el cambio en la corriente eléctrica. Cuarenta años más tarde, James Maxwell unificó ambos conceptos con su teoría del electromagnetismo, siendo un punto de inflexión en la historia de la física (80).

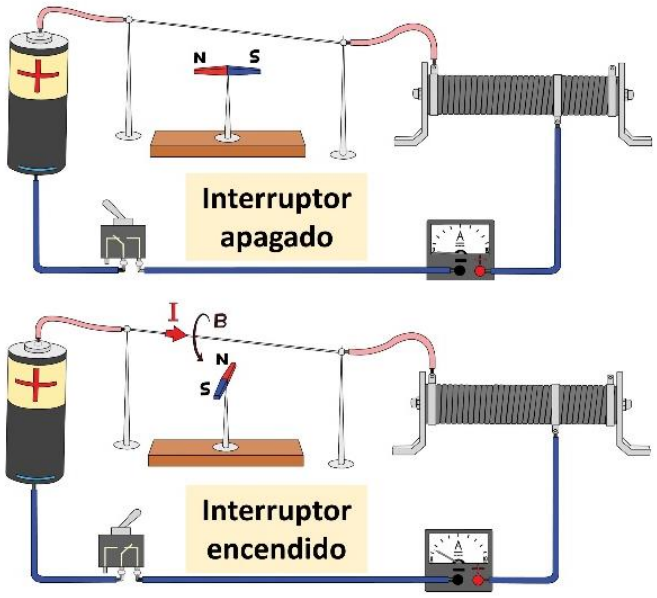

Ilustración 3. Experimento de Ørsted (1820)

En 1831, el famoso físico Michael Faraday probó la inducción electromagnética. En su ensayo utilizó dos bobinas de cobre que rodeaban un anillo de hierro (ver Ilustración 4). En la primera bobina conectó una batería, y en la segunda un medidor de corriente eléctrica (galvanómetro). Al encender la batería, Faraday logró registrar electricidad en la segunda bobina debido a la presencia de un campo magnético. El fenómeno solamente se observaba cuando se aplicaba una corriente variable por una de las bobinas, y estas se encontraban orientadas hacia el mismo plano (81).

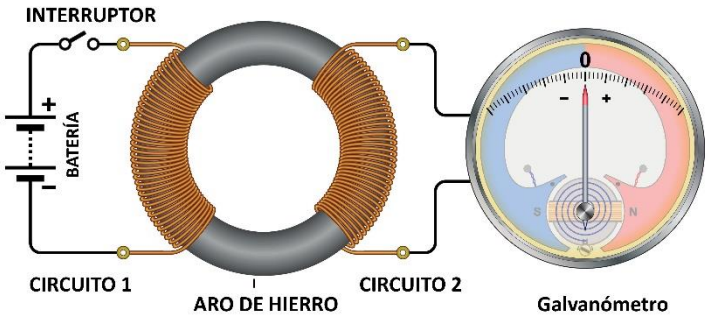

Ilustración 4. Experimento de Faraday (1831)

Este posterior descubrimiento fue la base que utilizó Anthony T. Barker en 1985 para crear un estimulador magnético compuesto por un capacitador de alto voltaje y una bobina circular plana (82). La EMT se consideró una técnica no invasiva, indolora y de fácil uso (83) en comparación con la estimulación eléctrica cerebral. Esta última era muy empleada en esa época y requería aplicar directamente sobre la piel del cuero cabelludo altos niveles de electricidad, pudiendo causar molestia, incomodidad o dolor (84).

Asimismo, la EMT fue también el primer instrumento que permitió aplicar un pulso de corriente eléctrica lo suficientemente rápido e intenso como para inducir un campo magnético sobre la corteza motora primaria (M1) y poder registrar un potencial evocado motor (PEM) mediante EMG en la extremidad contralateral (20). Barker fue el precursor de un aparato que en la actualidad se usa para la valoración cortical y corticoespinal. Su aplicación para el tratamiento de la depresión (85), la migraña (86) o el trastorno obsesivo-compulsivo (87), entre otras enfermedades, ha sido aprobada por la Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos.

B. Inducción electromagnética y mecanismo de estimulación

Según la inducción electromagnética (mencionada en el apartado anterior), una corriente eléctrica en un circuito (corriente primaria) origina proporcionalmente un campo magnético. Variaciones en este campo magnético inducen otra corriente en un conductor cercano (corriente secundaria) (81,88).

En la EMT, la corriente primaria circula a través de la bobina, y mediante el «puente» magnético se pueden estimular estructuras biológicas electroexcitables. Cuando se coloca la bobina sobre la cabeza, la corteza cerebral es la principal estructura estimulada, aunque también lo son en menor medida otros tejidos más superficiales (piel, músculo, meninges y líquido cefalorraquídeo). Se debe tener en cuenta que estas últimas capas no presentan una conductividad y/o resistencia suficiente como para influir en la cantidad de corriente inducida, por lo que no será necesario un aumento de la intensidad de estimulación (89,90). En las terminaciones axonales y las fibras nerviosas dobladas se produce un flujo de iones que alteran la carga eléctrica del potencial de

membrana celular, y solo cuando esta alteración es suficiente se produce una despolarización neuronal (83,91). La posición de la bobina determina las células que se activan, solamente estimulando aquellos elementos paralelos a la superficie cerebral, de forma indirecta (ejerciendo un efecto en las vías piramidales mediante la estimulación de elementos horizontales como las interneuronas) o directa (activando el cono axónico neuronal) (92).

La intensidad de la corriente primaria, las características de la bobina, así como otras particularidades del individuo (edad, género, estructura anatómica, estado de alerta y posibles signos patológicos), podrían alterar el alcance de la estimulación (79).

C. Componentes de la herramienta

De manera simplificada, el circuito de la EMT está formado por tres elementos (82,89) (ver Ilustración 5):

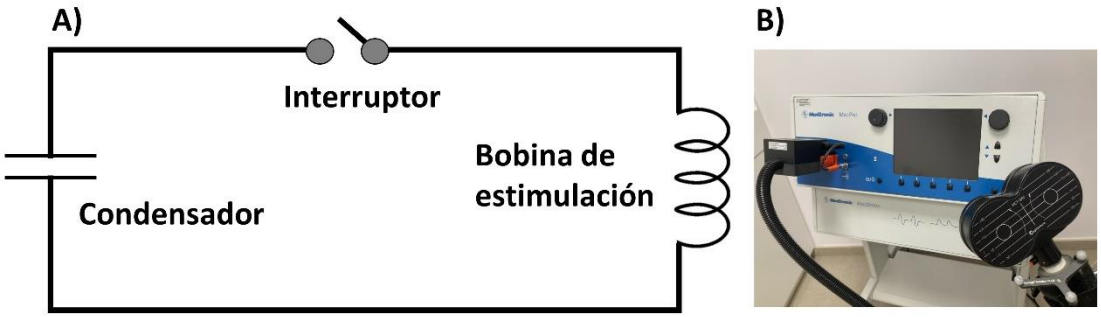

Ilustración 5. Circuito (A) y componentes (B) EMT

- Condensador (o banco de condensadores): almacena la energía (recogida lentamente de una toma de corriente) y la descarga, pudiendo producir 5000 A con un voltaje de 2,8 Kv (93). La cantidad de energía necesaria depende de las características del pulso que se quiere enviar.
- Interruptor (tipo Thyristor): conecta el circuito y permite disparar hacia la bobina pulsos de duración muy corta (<100 ms) y de gran energía (aproximadamente 500 J) (79). Una vez se emite el pulso, un fragmento energético alcanza la región que se desea estimular, otra parte retorna al condensador mediante un circuito de recuperación, y el restante se disipa por calor (89).
- Bobina: fabricada en hilo de cobre, está recubierta por una caja de plástico que actúa como aislante eléctrico y mecánico. Un cable de alto voltaje la conecta con el condensador (82). Este permite pasar a la bobina una corriente eléctrica (5-10 kA) induciendo un campo magnético (1-2 T) y eléctrico sobre un conductor cercano (94,95).

La colocación de la bobina es relevante para estimular y activar los grupos neuronales deseados (90). Primero, debe existir una mínima distancia con la corteza (a mayor distancia, menor campo eléctrico inducido). Segundo, el plano de la bobina debe orientarse tangencialmente a la cabeza

(96). Por último, al menos en M1, la dirección debe ser perpendicular al giro cerebral, aproximadamente a 45º de la línea interhemisférica (96,97). En otras regiones no motoras (corteza prefrontal o parietal) se suelen aplicar las mismas condiciones, aunque se desconoce la dirección más apropiada (98).

Existen múltiples tipos de bobina diferenciados por sus características físicas (tamaño y forma geométrica) y por sus materiales (resistencia e inductancia) que abarcan distintas profundidades y diámetros de la corteza cerebral (89). Por ejemplo, la bobina en forma de ocho (muy utilizada) permite estimular zonas específicas, pero a su vez superficiales. Esta herramienta está compuesta por dos bobinas contiguas por las que fluye electricidad en la dirección opuesta (ver Ilustración 6). En el centro de la bobina es donde se encuentran ambas corrientes y donde la corriente cerebral inducida es máxima (89).

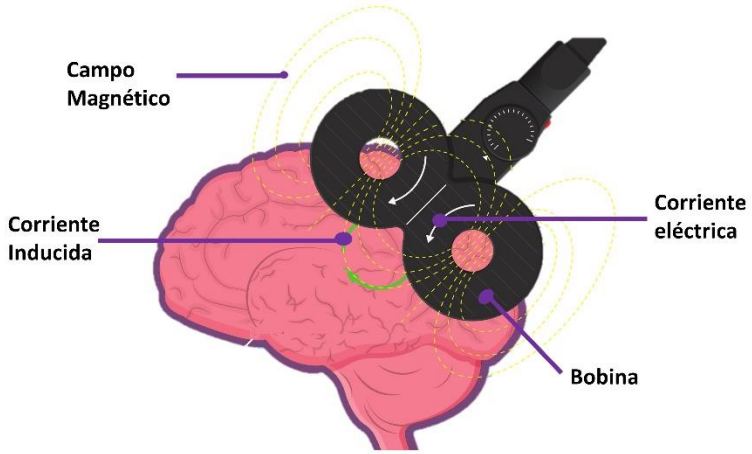

Ilustración 6. Corriente eléctrica inducida por la bobina en forma de ocho

D. Parámetros de estimulación

El pulso emitido por la bobina se puede modificar en intensidad, forma y frecuencia.

- Intensidad de la corriente primaria: permite encontrar el umbral motor en reposo (UM) de cada persona, a partir del cual se define la intensidad de estimulación que variará según el protocolo que se desee utilizar (por ejemplo, 120 % del UM) (19,79,99,100). El UM es una medida de excitabilidad corticoespinal. Se define como la mínima intensidad necesaria para inducir al menos 5 de 10 potenciales evocados motores (PEM), con una amplitud mínima de 50 µV, en el primer músculo interóseo dorsal en reposo de la mano contralateral (19).
- Forma de pulso: la onda se diferencia por la polaridad del voltaje que determina la dirección en la que fluye la corriente secundaria (101). Principalmente, existen dos tipos de ondas, la monofásica y la bifásica. En concreto, la onda bifásica es bidireccional y está formada por una primera oscilación positiva y una segunda negativa. Al presentar el doble de oscilaciones que la monofásica su uso permite reducir el UM, requiriendo menor

intensidad para inducir electricidad cerebral. Una ventaja es que, al necesitar menor energía, se retrasa el calentamiento de la bobina y se puede utilizar durante mayor tiempo en una misma sesión (19,99).

- Frecuencia: es el número de repeticiones de un estímulo. Según el protocolo EMT existen diferentes paradigmas, entre los que se encuentran los pulsos únicos y apareados (21). Los pulsos únicos se caracterizan por enviarse cada 3 o más segundos. Exploran la integridad de los circuitos neuronales, mediante el registro de las respuestas neurofisiológicas a nivel periférico (EMG) o central (EEG). Este paradigma permite obtener el UM (79). Por otro lado, los pulsos apareados son dos pulsos enviados muy seguidamente, en los que se valora el efecto que tiene el primer estímulo (condicionante) sobre el segundo (test). Valoran la inhibición o excitación cortico-cortical según la intensidad, el punto de estimulación y el intervalo de tiempo interestímulo (por ejemplo, 6 ms, 12 ms, 100 ms) (79). Por ejemplo, la inhibición intracortical de largo intervalo (LICI) es un protocolo muy utilizado que refleja la actividad del sistema neurotransmisor GABA-B (102,103). Se caracteriza por dos estímulos de intensidad supraumbral (120 % del UM) separados por un tiempo interestímulo entre 50 y 200 ms (104,105).

E. Selección del punto de estimulación

Previamente a la EMT, el profesional debe seleccionar el punto de estimulación. Para hacerlo puede utilizar tres métodos (tradicional, sistema 10-20 y neuronavegación) (ver Ilustración 7). En la forma tradicional se coloca un gorro de licra (similar al de natación) sobre el que se toman medidas y se marcan puntos de referencia para colocar posteriormente la bobina (106). En el segundo método, se ajusta un gorro EEG (sin electrodos) siguiendo el sistema de coordenadas internacional 10-20 (107). En el hemisferio izquierdo, por ejemplo, M1 corresponde a la posición del electrodo C3 (108), la corteza frontal a F3 (109) y la parietal a P3 (110). Por último, la neuronavegación (o técnica estereotáxica sin marco) es una herramienta tecnológica que ofrece mayor precisión que las opciones anteriores. Inicialmente se utilizaba solo en la cirugía cerebral, y poco a poco se extendió a otras técnicas (111). En la EMT, la neuronavegación permite identificar las estructuras cerebrales en tres dimensiones, y mediante el uso de referencias anatómicas situar la cabeza y la bobina en el espacio. Además, al cargar la resonancia magnética individual en el programa informático se pueden seleccionar los puntos de estimulación sobre una reconstrucción cerebral (79). Dichos puntos se pueden elegir identificando estructuras anatómicas (circunvoluciones o surcos cerebrales), o utilizando atlas funcionales (79,112). En cada lugar se obtienen las coordenadas en los tres ejes (x, y, z). Algunos de los programas más utilizados son Brainsight® (Rogue Research Inc., Montreal, QC Canadá) o Localite (Localite TMS Navigator, Bonn, Alemania).

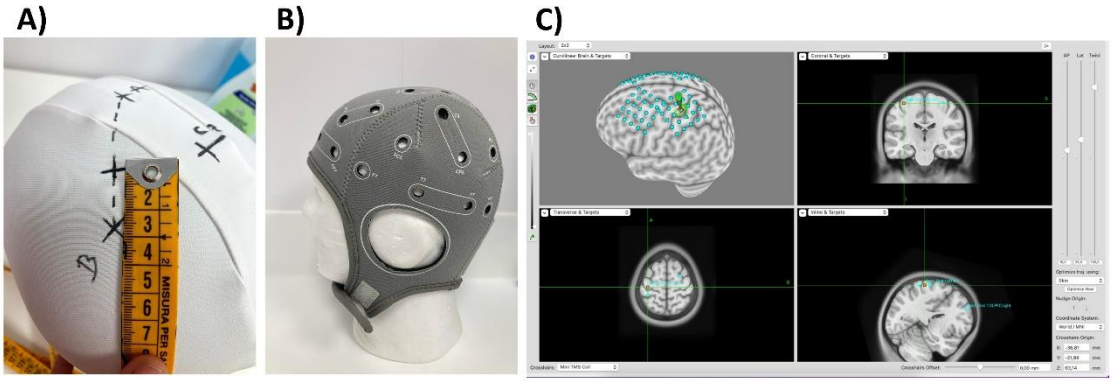

Ilustración 7. Métodos de selección del punto de estimulación

Nota: A: toma de medidas con gorro de licra; B: gorro EEG con sistema de coordenadas internacional 10-20; C: reconstrucción cerebral con neuronavegador Brainsight®.

F. Medidas de seguridad

En las guías sobre seguridad en EMT están descritas una serie de medidas para que la aplicación técnica sea segura, tanto para la persona estimulada como para el profesional que aplica la estimulación (74,83).

Persona estimulada

En primer lugar, es fundamental una correcta valoración del individuo, asegurándose que no existen criterios de exclusión (piezas metálicas y/o electrónicas, implantes cocleares, electrodos, bombas de infusión de medicamentos, marcapasos o neuroestimuladores). El magnetismo podría desplazar o averiar los materiales, y calentar no solo la bobina sino también los metales de alta conductividad, como el oro y la plata (riesgo de quemadura). Por estas razones, se recomienda conocer las características de cada objeto, desaconsejando llevar relojes y joyería durante la sesión. Además, se podrían utilizar sistemas de enfriamiento que mantengan la bobina a una temperatura óptima.

En segundo lugar, conocer el estado de la persona es importante, teniendo en cuenta los factores que alteran la excitabilidad cortical. Aplicar EMT podría ser peligroso durante la gestación, postinfarto cardíaco, y en según qué lesiones cerebrales, vasculares, traumáticas, infecciosas, metabólicas, tumorales, epilepsias o crisis comiciales.

En tercer lugar, es necesario informar de los efectos secundarios. El paciente podría experimentar dolor de cabeza y cuello (por contracción muscular o posición estática mantenida), molestias en el cuero cabelludo, mareos y pérdida de audición (causada por el alto nivel de ruido (140 db) que puede llegar a producir la bobina). La crisis comicial es el efecto adverso más relevante y raro (en protocolos de EMT repetitiva de alta frecuencia) y sería causada por una descarga neuronal simultánea (hipersincronía) en la corteza cerebral.

Por último, existen unas recomendaciones preventivas y de manejo de dichos efectos. Se recomienda explicar adecuadamente el procedimiento y los objetivos, firmar el consentimiento y ajustar la intensidad de estimulación al UM individual. En cuanto al manejo del dolor o malestar podría administrarse un fármaco analgésico oral, y la pérdida de audición se podría prevenir utilizando tapones auditivos durante la prueba. En cuanto a la crisis comicial, se debe seguir el protocolo establecido por cada centro.

Profesional

Los riesgos se continúan estudiando. Se desconoce la repercusión que tiene una exposición continuada al campo magnético generado por la EMT, aunque se recomienda no aplicar la técnica en caso de embarazo, utilizar protección auditiva e intentar minimizar las estimulaciones prolongadas a menos de 40 cm de la bobina.

1.3.2. Combinación de herramientas

La excitabilidad cortical se puede explorar aplicando simultáneamente EMT con herramientas de registro electrofisiológicas como la electromiografía (EMT-EMG) o la electroencefalografía (EMT-EEG). Son técnicas de alta resolución temporal que miden la respuesta a nivel periférico y central, respectivamente. La EMT-EMG permite un estudio de la excitabilidad cortical motora (circuitos excitatorios e inhibitorios), así como de la integridad de las vías corticoespinales (21,113). La EMT-EEG se utiliza para valorar la excitabilidad, la conectividad y la plasticidad de toda la corteza cerebral (40,100).

- EMT-EMG: consiste en estimular y registrar la respuesta muscular. La más utilizada es la aplicada sobre M1, en la que se registra la respuesta motora muscular (PEM) de la mano contralateral (primer músculo interóseo dorsal o abductor corto del pulgar) (79). Cada PEM se puede diferenciar según la latencia (tiempo desde que se emite un pulso único en la corteza cerebral y aparece a nivel periférico) y la magnitud (79).
  En la actualidad, se utilizan en gran medida algunos protocolos de pulsos únicos y apareados como el UM y el LICI (114). Aunque se cree que ambos paradigmas son marcadores biológicos en distintos trastornos neurológicos (52,64,115,116), es necesaria más literatura en población sana de mediana edad. Concretamente, conocer si el UM y el LICI pudieran ser marcadores de salud cerebral y si influyen otros factores como el género (24,117).
- EMT-EEG: es una herramienta con alta resolución espacial y temporal, empezada a utilizar en 1989 (118), que se emplea tanto en población sana como patológica (100,119,120). Permite aplicar estímulos registrando simultáneamente su efecto sobre la corteza cerebral, tanto en el área de origen como en su propagación a otras regiones conectadas estructural y funcionalmente (18,121,122). Concretamente, el pulso EMT induce una corriente eléctrica secundaria que podría iniciar potenciales de acción en el área estimulada. La suma temporal y espacial de los potenciales excitatorios e inhibitorios

postsinápticos inducidos por la EMT es lo que se registra con el EEG (79). Para realizar un EEG es necesario colocar un gorro con electrodos de superficie encima del cuero cabelludo y conectarlo a un amplificador que mida la diferencia de voltaje entre electrodos. La señal EEG producida está formada por una serie de ondulaciones (con amplitud variable) que aparecen en un tiempo determinado (ritmos o bandas EEG) (123). Por otro lado, la respuesta cortical al EMT-EEG se denomina potencial evocado EMT (suma de potenciales sinápticos). Este potencial se manifiesta como una onda de aproximadamente 300 ms formada por picos de diferente amplitud, latencia y polaridad (100). Se han definido algunos picos por área cortical (40,98). Los que aparecen en latencias más tempranas podrían relacionarse con los mecanismos excitatorios e inhibitorios rápidos en el área de estimulación, y los más tardíos estarían asociados a procesos inhibitorios lentos, que reflejarían una propagación a otras áreas cerebrales (40,79).

La excitabilidad cortical, o la respuesta a la estimulación, se puede medir también a nivel local y global, mediante la Global Mean Field Power (GMFP) y la Local Mean Field Power (LMFP), respectivamente (100,124,125). Ambas medidas reflejan la distribución del campo eléctrico en la corteza cerebral (126) y podrían ser valiosas en el estudio de la excitabilidad cortical, tanto de la región estimulada como en otras áreas cerebrales conectadas (126,127). Para ello, la GMFP utiliza la señal de todos los electrodos EEG, mientras que para la LMFP se emplean grupos de electrodos que se encuentran en la zona que nos interesa estudiar (por ejemplo, prefrontal izquierdo: FC1, FC3, FC5, F1, F3, F5). En adultos sanos se han utilizado estas medidas para medir el efecto neurofisiológico de la estimulación no invasiva (127–130), y una alteración de estas se ha asociado con patologías como la depresión (131). Pese a todo esto, aún no se conoce qué relación podría existir entre estas dos medidas de excitabilidad cortical con la cognición en adultos sanos de mediana edad.

1.4. Las funciones cognitivas y su evaluación

La cognición o las funciones cognitivas se entienden como el conjunto de habilidades mentales necesarias para atender a estímulos externos (o motivaciones internas), extraer la información relevante, dándole sentido y almacenándola en nuestra memoria, para finalmente planificar y responder adecuadamente (motriz o verbalmente) al entorno (34,132,133). Por tanto, el desempeño cognitivo se distingue a través de dominios específicos como la atención, la memoria, el lenguaje, el control motor y las funciones ejecutivas (habilidades temporales de organizar una serie de acciones para lograr un objetivo) (134–136).

En numerosas ocasiones a lo largo de la historia se ha querido asociar la cognición a la estructura anatómica cerebral. Por ejemplo, Franz Joseph Gall, anatomista del siglo XVIII, propuso la frenología (teoría no validada científicamente en la que, según la forma del cráneo, el cerebro se dividía en múltiples órganos y funciones). Paul Broca y más tarde Karl Wernicke (siglo XIX)

profundizaron en las bases anatómicas del lenguaje. Mientras que Broca relacionó el lóbulo frontal izquierdo con la producción de dicha función, Wernicke asoció el temporal izquierdo a la comprensión. Más adelante, Korbinian Broadman (siglo XX) dividió la corteza en 52 regiones anatómicas, a las que asignó distintas funciones cognitivas y conductuales. Dicho mapa lo realizó mediante la exploración microscópica de la estructura y organización celular del córtex (citoarquitectura) (33). Actualmente, la cognición se atribuye a la neocorteza, concretamente a las cortezas de asociación (prefrontal, temporal, parietal y occipital), aunque sus funciones continúan investigándose.

La evaluación de la cognición se realiza clásicamente mediante las pruebas neuropsicológicas (medidas estandarizadas que se aplican con lápiz y papel, u ordenador) (137). El presente trabajo se ha centrado particularmente en el estudio de algunas de dichas funciones por su importancia en el envejecimiento normal (138).

1.4.1. Atención y velocidad de procesamiento

La atención es una función muy necesaria y básica para todos los procesos cognitivos. El sistema nervioso recibe alta cantidad de estímulos al mismo tiempo, y esta capacidad permite filtrar y seleccionar aquellos más relevantes, inhibiendo la información no deseada. El objetivo es poder dar una respuesta sensorial, motora y cognitiva adecuadas (133,137).

Entre sus principales características se encuentra la de ser una función compleja, dinámica, multimodal y jerárquica. Son necesarias diferentes estructuras y subfunciones del SNC, que están organizadas jerárquicamente según la complejidad. Por ejemplo, las estructuras encefálicas más profundas están relacionadas con la atención involuntaria, mientras que el córtex lo está con la atención selectiva más intencionada (137).

En la corteza cerebral es donde se regula el nivel de alerta y se decide la procedencia de los estímulos. Concretamente, las cortezas prefrontal y parietal son las que tienen mayor activación durante el control atencional. Mientras que la corteza parietal prepara los mapas sensoriales para controlar la atención, la prefrontal es la encargada de controlar la atención voluntaria (por ejemplo, mantener en el tiempo el foco atencional —atención sostenida— o dar respuesta a un estímulo determinado pese a que existan otros al mismo tiempo —atención selectiva—) (137). Ambas regiones utilizan un procesamiento de arriba hacia abajo (*top down*) que permite regular y procesar los estímulos en diferentes niveles (sensoriales y de asociación). Gracias a este proceso se pueden inhibir distractores y automatismos para poder responder a tareas complejas y demandantes (132).

Los primeros cambios estructurales del envejecimiento aparecen en la corteza prefrontal, empeorando progresivamente el desempeño cognitivo, especialmente en tareas complejas que requieren atención selectiva o dividida (habilidad de centrarse en múltiples tareas a la vez). Sin embargo, las tareas atencionales más sencillas podrían mantenerse hasta los 80 años (138,139).

Por otro lado, son necesarias otras funciones como la velocidad de procesamiento para un desempeño correcto de la atención, ya que una alteración en esta última podría afectar a otras funciones cognitivas, como la memoria y el razonamiento (137,140).

La velocidad de procesamiento es la capacidad (fluidez, eficiencia y suma de tiempos) con la que el sistema cognitivo percibe y procesa la información, para planificar y responder apropiadamente, o, dicho de otra manera, es el tiempo en el que se tarda en realizar una tarea cognitiva (a mayor velocidad, mejor desempeño cognitivo) (141,142).

Esta función, relacionada con la atención, se ha relacionado también con la corteza prefrontal, motora, sensitiva o cerebelosa (142,144), asociándose el deterioro frontal al enlentecimiento de procesamiento o ejecución de las tareas (142).

Algunas pruebas neuropsicológicas para su estudio:

- Trail Making Test (TMT) (144,146): la prueba consta de dos partes (A y B). En la A, el neuropsicólogo presenta una hoja con unos números distribuidos en la misma. El evaluado deberá unir con una línea, lo más rápido que pueda, dichos números en orden ascendente. Siguiendo la misma idea, en la parte B se presentan no solo números sino también letras. El evaluado deberá unirlos en orden ascendente alternando un número con una letra de forma sucesiva. Una vez finalizada la prueba se obtienen los tiempos de ambas partes, y se calcula su diferencia (B-A). En el TMT se miden principalmente los procesos atencionales. La parte A explora la búsqueda visual y la velocidad de procesamiento, mientras que la parte B y la B-A están más centradas en la flexibilidad cognitiva.
- Tarea de cancelación de escala de inteligencia de Wechsler para adultos IV (WAIS-IV; cancelación) (147): el evaluador enseña dos figuras con colores y formas geométricas específicas. El evaluado deberá encontrar y tachar dichas figuras en un conjunto de diferentes formas y colores, requiriendo la selección de estímulos y el control de la interferencia. Esta prueba mide los procesos atencionales y la velocidad de procesamiento.
- Claves de números de WAIS-IV (claves de números) (147): el evaluado debe asociar un símbolo a un número según como se encuentren emparejados al inicio del ejercicio. Evalúa la atención sostenida y la velocidad de procesamiento.

1.4.2. Flexibilidad cognitiva

La flexibilidad cognitiva es la capacidad de cambiar la perspectiva con la que se afronta una situación, inhibiendo el registro previo y activando uno nuevo. Para ello, el individuo debe ser capaz de adaptarse a nuevas demandas o estímulos, generando una conducta conveniente (148).

En cuanto a las bases anatómicas, la flexibilidad también se ha asociado con la corteza frontal, concretamente con la región dorsolateral (137). Esta presenta un deterioro durante el

envejecimiento, disminuyendo la capacidad de adaptación a nuevas situaciones y ambientes (149).

El TMT, como se mencionó anteriormente, es una prueba neuropsicológica para explorar este dominio cognitivo, específicamente la parte B (144,146).

1.4.3. Memoria de trabajo

La memoria de trabajo se ha definido como el sistema necesario para almacenar y manipular la información a corto plazo, con el objetivo de emplearla en otras tareas de procesamiento complejas y de elaborar una respuesta basada en su contenido (133,150, 151). En adultos mayores se ha observado un peor desempeño en esta función (152).

Su correcto funcionamiento es importante por dos razones. Primero, para poder interaccionar con el entorno y, por ejemplo, resolver problemas o actuar congruentemente dependiendo de la situación (153). Segundo, para una buena integración y cometido de otras funciones cognitivas, permitiendo realizar dos o más tareas al mismo tiempo. Algunas de las funciones cognitivas con las que se ha relacionado la memoria de trabajo son: la atención, la comprensión lingüística, el aprendizaje, el razonamiento y la memoria a largo plazo (150,154–156).

Baddeley y Hitch (151) propusieron un modelo multicomponente de la memoria de trabajo que estaba formado por tres subcomponentes (bucle fonológico, agenda visoespacial y ejecutivo central) con distintas funciones, pero colaborativos y coordinados (137,157). El bucle fonológico o lazo articulatorio es el encargado de almacenar la información en forma verbal. Este utiliza un almacenamiento temporal y un sistema de control articulatorio parecido al usado en la «lectura silenciosa», repitiendo la información como un habla interna (137). Por otro lado, la agenda visoespacial permite almacenar toda la información visual y espacial. Finalmente, el ejecutivo central coordina la actividad entre los dos subcomponentes anteriores. Se encarga de manipular la información activamente, y de esta forma planificar, organizar, tomar decisiones y ejecutar tareas cognitivas (137,158).

Existen diferentes áreas cerebrales que se activan durante tareas que involucran la memoria de trabajo. Por ejemplo, en el almacenamiento verbal se ha observado una doble disociación neuroanatómica según el nivel de carga cognitiva de la tarea. En las tareas de baja carga es relevante el giro temporal superior, mientras que en las de carga más alta son necesarias el área prefrontal, la corteza motora y la somatosensorial. En ambos tipos de tareas también se ha observado la activación de la corteza parietal inferior (158).

Algunas pruebas neuropsicológicas para su estudio:

- Secuencia de letras y números de WAIS-IV (letras y números) (146): el evaluador presenta una hoja con una serie de números y letras mezclados. A partir de aquí, el evaluado debe ordenarlos ascendente y alfabéticamente. Evalúa la atención y la memoria de trabajo verbal.

- Dígitos directos de WAIS-IV (dígitos directos) (146,147): el evaluador presenta oralmente una serie de números y, al finalizar, el evaluado debe repetirla en el mismo orden. Se trata de una medida de memoria a corto plazo (inmediata) y de memoria de trabajo.
- Dígitos inversos de WAIS-IV (dígitos inversos) (146): el evaluador presenta oralmente una serie de números que el evaluado debe repetir en orden inverso al presentado. Se explora la memoria de trabajo verbal.

1.4.4. Razonamiento

El razonamiento o razonamiento abstracto es la habilidad de dirigir los pensamientos para resolver problemas, sacar conclusiones y relacionar elementos (148). Es una función cognitiva que forma parte de la inteligencia fluida. Esta última es una capacidad innata, que no depende de las experiencias o aprendizajes previos, y que permite razonar, relacionarse con el entorno, aprender cosas nuevas y reconocer patrones para resolver problemas (159).

Se ha observado una relación entre el razonamiento y otras funciones, como por ejemplo la memoria de trabajo, ya que las tareas de razonamiento podrían depender de su correcto desempeño (159,160). Por otro lado, el deterioro global del área frontal durante el envejecimiento se ha asociado a una disminución y enlentecimiento del razonamiento (161).

Algunas pruebas neuropsicológicas para su estudio:

- Matrices de WAIS-IV (matrices) (147): el evaluador presenta series o secuencias visuales lógicas incompletas. El evaluado debe elegir el dibujo que encaje para completar dicha serie. Evalúa el razonamiento abstracto.
- Cubos de WAIS-IV (cubos) (147): el neuropsicólogo muestra unos patrones o modelos visuales, y posteriormente el evaluado debe intentar reproducirlos construyéndolos con unos cubos de color rojo y blanco. Se explora la resolución de problemas visoespaciales, además de la planificación y la viso-construcción.

1.4.5. Memoria

La memoria es una función que permite registrar, codificar, consolidar, retener, almacenar y recuperar la información (137). Entre las numerosas divisiones existentes se encuentran las que clasifican la memoria según el tiempo de almacenamiento de la información (corto y largo plazo) (162), y las que lo hacen según si el recuerdo necesario para realizar una tarea es consciente o inconsciente (memoria explícita o implícita) (137). A su vez, la memoria explícita se puede clasificar en semántica (conocimientos culturales genéricos libres de contexto) y episódica (163). Concretamente, la memoria episódica es un tipo de memoria a largo plazo que permite aprender, almacenar y recuperar eventos y vivencias personales del pasado (164,165). Esta función se ha asociado con la actividad en el lóbulo temporal medio, incluyendo el hipocampo, así como sus conexiones corticales y subcorticales (166). Además, la memoria episódica es una función

susceptible a cambios durante el envejecimiento, por lo que podría ser importante su estudio en la población de mediana edad (167,168).

Algunas pruebas neuropsicológicas para su estudio:

- Test de aprendizaje auditivo verbal de Rey (RAVLT) (169,170): es una prueba de memoria episódica que consta de dos partes. En la primera, el evaluador lee en voz alta una lista de 15 palabras no relacionadas entre sí, solicitándole al evaluado que recuerde y diga en voz alta el máximo número posible durante 5 ensayos. En la segunda parte, tras un período de 20-30 minutos, se le solicita que evoque todas las palabras que recuerde de dicha lista y, posteriormente, se realiza un ensayo de reconocimiento. Se mide la memoria episódica, concretamente el recuerdo inmediato y el diferido.
- Spanish Version of the Face Name Associative Memory Exam (S-FNAME) (171,172): Es una prueba de memoria episódica asociativa. El neuropsicólogo muestra una serie de caras, y posteriormente, las presenta junto con sus nombres y profesiones. El evaluado deberá recordar, inmediatamente y tras un período de 30 minutos, la información asociada a cada cara.
- Cubos de Corsi — orden directo (146): el evaluador toca los cubos siguiendo una secuencia, y el evaluado debe recordarla. La complejidad irá aumentando a medida que avance la prueba. Aunque la literatura considera que los cubos de Corsi podrían medir la memoria de trabajo, concretamente en el orden directo está más implicada la memoria episódica inmediata visoespacial. Esto es debido a que no se requiere de la manipulación de los estímulos, como si pudiera necesitarse en el orden inverso.
- Dígitos directos (146,147).

1.5. Relación entre excitabilidad cortical y cognición

La excitabilidad cortical es la respuesta de las neuronas a los estímulos internos y externos. Estos son procesados por el cerebro mediante el sistema asociativo, encargado de integrar la información sensorial, y junto con las funciones cognitivas, de dar una respuesta adecuada a estos estímulos.

Algunas regiones del cerebro (y su excitabilidad) se han relacionado con la cognición (173), siendo un importante ejemplo la corteza prefrontal. Como se ha comentado anteriormente, esta tiene conexiones con muchas estructuras (sensoriales, motoras, neocorticales y subcorticales) y se cree que podría tener un papel protector en la salud mental ante factores estresantes (174). Está implicada en la modulación *top down* de las funciones cognitivas, especialmente las funciones ejecutivas (175–177). Se ha observado que la conservación de la actividad en la corteza prefrontal ayuda al mantenimiento de las habilidades cognitivas en el tiempo (178,179), existiendo una relación positiva entre su actividad cortical y la cognición (180,181).

Por otro lado, la corteza prefrontal se ha relacionado con otras regiones como por ejemplo la corteza motora (182–184). De hecho, en el lóbulo frontal hay una serie de estructuras involucradas en la función motora que se encuentran interconectadas cortico-corticalmente y se organizan jerárquicamente. La corteza prefrontal corresponde al nivel más superior, y se encuentra vinculada a la corteza premotora (suplementaria y cingulada), que a su vez se conecta con M1 (nivel inferior). Igualmente, para un correcto control motor estas tres estructuras (cortezas prefrontal, premotora y M1) se conectan mediante circuitos axonales al tálamo, ganglio basal y cerebelo (136). La corteza prefrontal se encarga de iniciar, facilitar e inhibir el movimiento, mientras que la corteza premotora lleva a cabo la toma de decisiones y la programación del movimiento (137, 184).

Además, se ha sugerido que el almacenamiento de la memoria motora ocurre no solo en la corteza prefrontal sino, también en menor medida, más específicamente y de manera más temporal, en la corteza premotora y M1 (136). En particular, la corteza premotora parece contribuir a la memoria de trabajo y, dada su conectividad con M1, sería interesante explorar su papel en esta función cognitiva (185,186).

En general, el estudio con estimulación no invasiva, sobre todo con EMT, es mayor en las áreas motoras que en las no motoras. Esto podría ser debido a que la metodología que se necesita para la motora (EMT-EMG) es más fácil y se empezara a utilizar antes que la de la no motora (EMT-EEG). Actualmente, son necesarios estudios con ambas combinaciones de herramientas, ya que el EMT-EMG es más accesible y reproducible, y el EMT-EEG permite medir la excitabilidad de toda la corteza cerebral con mayor precisión, incluyendo la prefrontal.

La excitabilidad cortical es muy importante para el funcionamiento cerebral y la cognición (187,188), y tanto la excitabilidad de M1 como la de la corteza prefrontal se han relacionado con las funciones cognitivas. En personas sanas adultas existen resultados inconsistentes que podrían ser debidos a diferencias en el área cortical estimulada o a las funciones cognitivas estudiadas. Varias investigaciones han observado que una excitabilidad excesiva en M1 se relacionaba con peor atención y cognición global (23,24), o que la inhibición intracortical motora se asociaba a la memoria de trabajo (189). Por otro lado, algunos estudios sugieren que una aplicación de EMT repetitiva sobre el área prefrontal de forma bilateral podría mejorar la función cognitiva en adultos mayores (190,191), y esto podría ser debido a que esta técnica fomentaría mecanismos compensatorios (192).

1.6. Justificación de la tesis

La presente tesis doctoral se ha llevado a cabo dentro del marco del proyecto BBHI del Institut Guttmann en Barcelona (4), un estudio longitudinal cuyo objetivo principal es identificar marcadores de salud cerebral en la población adulta sana.

Ilustración 8. Logo proyecto BBHI

La salud cerebral puede investigarse desde múltiples enfoques, incluida la exploración de la conectividad neuronal, que a su vez se puede valorar mediante el desempeño cognitivo (12). En particular, ciertas regiones del cerebro como la corteza prefrontal juegan un papel importante en la cognición y están conectadas cortico-corticalmente con otras áreas cerebrales como la corteza motora (136). Como se comentaba anteriormente, el grado de eficiencia de dichas conexiones neuronales se puede medir con EMT, una herramienta que, junto con EMG o EEG, permite valorar la excitabilidad del sistema nervioso mediante el registro de respuestas evocadas por la perturbación (40).

En este sentido, la excitabilidad cortical es un potencial biomarcador de enfermedad (45,52,193), pudiéndolo ser también de salud cerebral, y sus alteraciones podrían afectar tanto a la región examinada como a sus conexiones y funciones cognitivas asociadas. Por lo tanto, examinar la relación entre la excitabilidad cortical y la función cognitiva mejorará nuestro conocimiento de los mecanismos neurofisiológicos de la cognición. Aunque se ha demostrado que el desequilibrio E/I está asociado con deterioro cognitivo en individuos con trastornos neurológicos (51–56), pocos estudios han explorado esta asociación en individuos sanos (23,24). De hecho, incluso menos estudios se han centrado en personas sanas de mediana edad (194,195). Es pertinente estudiar este rango de edad porque los cambios en la función cerebral aparecen décadas antes de los primeros síntomas clínicos (17).

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar nuevos marcadores de salud cerebral y buena cognición en adultos de mediana edad, sin trastornos neurológicos o psiquiátricos. Con este fin, llevamos a cabo dos experimentos que investigan la relación entre la excitabilidad cortical (registrada en M1 y corteza prefrontal después de EMT) y las funciones cognitivas (atención y velocidad de procesamiento, flexibilidad cognitiva, memoria de trabajo, razonamiento y memoria).

En primer lugar, examinamos la relación entre la cognición y M1 midiendo la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical con EMT-EMG. Aunque M1 no parece estar directamente relacionada con la cognición, es la región más estudiada con EMT, y se ha vinculado con otras estructuras como la corteza premotora y, de ahí, la corteza prefrontal. Algunos estudios han demostrado que la excitabilidad motora en personas con trastornos neurológicos se asocia a un deterioro cognitivo (64,115,117). Este estudio tiene como objetivo llenar un vacío de conocimiento al examinar la relación entre el equilibrio E/I en M1 (medido con el UM y el LICI) y la cognición. Además, dado que los receptores GABA-B pueden ser objetivos potenciales para mejorar la disfunción cognitiva, y los déficits de memoria y aprendizaje (196), se hipotetiza que una mejor cognición estaría asociada con una mayor inhibición intracortical, y una menor excitabilidad cortical. De la misma forma, como existen diferencias en los neurotransmisores GABA-B en hombres y mujeres, también se espera observar distinciones al menos en la medida de inhibición intracortical.

En segundo lugar, se pretendía examinar la relación entre la excitabilidad de la corteza prefrontal (medida con EMT-EEG) y la cognición, esperando un vínculo con la corteza prefrontal, ya que es una región profundamente involucrada en los procesos cognitivos. Para ello, utilizamos dos medidas de excitabilidad cortical que miden la distribución eléctrica local y global (LMFP y GMFP) tras la aplicación de pulsos EMT-EEG. Dado que ambas medidas neurofisiológicas han sido utilizadas en estudios previos (127,128,130,131,197), es de interés conocer si se puede caracterizar el desempeño cognitivo en personas sanas de mediana edad. También se quiso examinar si presentar daño neuroaxonal y neurodegeneración —medidos con NfL (66)— podía llegar a alterar estos resultados.

2. HIPÓTESIS

1) El UM y el LICI, dos medidas de excitabilidad corticoespinal e inhibición intracortical de la corteza motora primaria, están asociadas con la función cognitiva. Concretamente, un UM bajo (mayor excitabilidad motora) y un LICI alto (menor inhibición intracortical) se asocian a peores funciones cognitivas.
2) Las distribuciones de campo eléctrico local y global (LMFP y GMFP) obtenidas tras aplicar EMT-EEG sobre la corteza prefrontal (área muy relevante en la cognición) se relacionan con las funciones cognitivas implicadas en esta área de interés.

3. OBJETIVOS

Objetivo principal

Caracterizar nuevos marcadores de salud cerebral mediante la aplicación de EMT en la corteza prefrontal y motora, y mejorar la comprensión sobre los mecanismos de cognición en la población adulta sana de 40 a 65 años.

Objetivos secundarios

- Cuantificar la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical, inducidas y medidas por EMT sobre el área motora, y registradas mediante EMG.
- Medir la excitabilidad cortical, inducida y medida por EMT sobre la corteza prefrontal y registrada mediante EEG.
- Examinar la relación de dichas medidas de excitabilidad con las funciones cognitivas (atención y velocidad de procesamiento, flexibilidad cognitiva, memoria de trabajo, razonamiento y memoria).

4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

4.1. Artículo 1

Redondo-Camós M, Cattaneo G, Alviarez-Schulze V, Delgado-Gallén S, España-Irla G, Solana-Sánchez J, Perellón-Alfonso R, Albu S, Tormos JM, Pascual-Leone A and Bartres-Faz D (2022). Long-interval intracortical inhibition in primary motor cortex related to working memory in middle-aged adults. Front. Psychol. 13:998062.

frontiers | Frontiers in Psychology

TYPE Original Research
PUBLISHED 28 September 2022
DOI 10.3389/fpsyg.2022.998062

Check for updates

OPEN ACCESS

EDITED BY
Ti-Fei Yuan,
Shanghai Jiao Tong University, China

REVIEWED BY
Yujing Wang,
Wenzhou Medical University, China
Yi Zhang,
Shanghai Jiao Tong University, China

*CORRESPONDENCE
Alvaro Pascual-Leone
apleone@hsl.harvard.edu
David Bartres-Faz
dbartres@ub.edu

†These authors have contributed equally to this work

SPECIALTY SECTION
This article was submitted to Cognition, a section of the journal Frontiers in Psychology

RECEIVED 19 July 2022
ACCEPTED 31 August 2022
PUBLISHED 28 September 2022

CITATION
Redondo-Camós M, Cattaneo G, Alviarez-Schulze V, Delgado-Gallén S, España-Irla G, Solana-Sanchez J, Perellón-Alfonso R, Albu S, Tormos JM, Pascual-Leone A and Bartres-Faz D (2022) Long-interval intracortical inhibition in primary motor cortex related to working memory in middle-aged adults. *Front. Psychol.* 13:998062. doi: 10.3389/fpsyg.2022.998062

COPYRIGHT
© 2022 Redondo-Camós, Cattaneo, Alviarez-Schulze, Delgado-Gallén, España-Irla, Solana-Sanchez, Perellón-Alfonso, Albu, Tormos, Pascual-Leone and Bartres-Faz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Long-interval intracortical inhibition in primary motor cortex related to working memory in middle-aged adults

María Redondo-Camós[1,2,3], Gabriele Cattaneo[1,2,3], Vanessa Alviarez-Schulze[4,5], Selma Delgado-Gallén[1,2,3], Goretti España-Irla[1,2,3], Javier Solana-Sanchez[1,2,3], Ruben Perellón-Alfonso[5,6], Sergiu Albu[1,2,3], José M. Tormos[1,2,3], Alvaro Pascual-Leone[1,7,8*†] and David Bartres-Faz[1,5,6*†]

[1]Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació adscrit a la Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, [2]Departament de Medicina, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, [3]Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain, [4]Departamento de Ciencias del Comportamiento, Escuela de Psicología, Universidad Metropolitana, Caracas, Venezuela, [5]Departament de Medicina, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, i Institut de Neurociències, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, [6]Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain, [7]Hinda and Arthur Marcus Institute for Aging Research and Deanna and Sidney Wolk Center for Memory Health, Hebrew SeniorLife, Boston, MA, United States, [8]Department of Neurology, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

Introduction: Excitability of the primary motor cortex measured with TMS has been associated with cognitive dysfunctions in patient populations. However, only a few studies have explored this relationship in healthy adults, and even fewer have considered the role of biological sex.

Methods: Ninety-seven healthy middle-aged adults (53 male) completed a TMS protocol and a neuropsychological assessment. Resting Motor Threshold (RMT) and Long-Interval Intracortical Inhibition (LICI) were assessed in the left motor cortex and related to attention, episodic memory, working memory, reasoning, and global cognition composite scores to evaluate the relationship between cortical excitability and cognitive functioning.

Results: In the whole sample, there was a significant association between LICI and cognition; specifically, higher motor inhibition was related to better working memory performance. When the sample was broken down by biological sex, LICI was only associated with working memory, reasoning, and global cognition in men. No associations were found between RMT and cognitive functions.

Conclusion: Greater intracortical inhibition, measured by LICI, could be a possible marker of working memory in healthy middle-aged adults, and biological sex plays a critical role in this association.

10.3389/fpsyg.2022.998062

KEYWORDS

transcranial magnetic stimulation, electromyography, long-interval cortical inhibition, motor cortex, cognition, resting motor threshold

Introduction

The balance of cortical excitation and inhibition (E/I balance) is a core neurophysiologic metric of neuronal and brain network activity believed to determine optimal brain functioning (Sukenik et al., 2021). In patient populations, including autism spectrum disorders or schizophrenia, an E/I imbalance has been observed in different cortical areas and shown to be associated with behavioral and cognitive symptoms (Sohal and Rubenstein, 2019; Bruining et al., 2020; Calvin and Redish, 2021; Maestú et al., 2021). In Alzheimer's disease, cortical motor hyperexcitability has been negatively related to cognitive performance (Zadey et al., 2021), possibly due to enhanced intracortical excitatory circuits (Di Lazzaro et al., 2004; Meder et al., 2021) or/and an inhibitory deficit (Khedr et al., 2011; Pennisi et al., 2011; Joseph et al., 2021; Mimura et al., 2021).

Past research exploring cortical excitability and cognition has produced inconsistent results in healthy, cognitive-unimpaired adults. This variability may be due to differences depending on the cortical area or specific cognitive functions assessed. For example, while higher excitability after stimulation of the left prefrontal cortex has been related to better executive functions and working memory (Redondo-Camós et al., 2022), other studies have observed that excessive excitability of the primary motor cortex was associated with impaired attention and global cognition (Bolden et al., 2017; Akilan et al., 2020). Other aspects that may modulate the association between cortical E/I balance and cognitive functioning may relate to age, given the different degrees of preservation of gamma-aminobutyric acid (GABA) circuits linked to physiological aging (McGinley et al., 2010; Opie and Semmler, 2014; Hermans et al., 2018). Indeed, age-related cortical excitability changes have been previously linked to differences in attention and inhibitory control in healthy adults (Cespón et al., 2022). Also, biological sex could play a key role since differences in brain anatomy and connectivity between men and women, as well as hormonal influences associated with menstrual cycle variations in women, may lead to distinct neural processes involved in cognitive and motor control (Korzhyk et al., 2019; Rezzani et al., 2019). Gender-associated differences could be due to genetic determinants, lifestyle factors including physical activity, alcohol, or tobacco consumption (Rezzani et al., 2019; Travica et al., 2020), or steroid hormone levels, which are higher in women and have been related to GABA neurotransmission, mood and memory (Cosgrove et al., 2007; Rezzani et al., 2019).

Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) combined with Electromyography (EMG) is a widely used technique to study inhibitory and excitatory mechanisms in the motor cortex (Kobayashi and Pascual-Leone, 2003; Ferreri and Rossini, 2013). Specifically, single-pulse TMS (spTMS) has been used to explore cortical excitability by measuring Resting Motor Threshold (RMT), which is the minimum intensity that elicits a Motor Evoked Potential (MEP) of more than 50 μV in 50% of trials (Rossini et al., 2015). Long-Interval Intracortical Inhibition (LICI), where two suprathreshold stimuli separated by an interstimulus interval (ISI) between 50 and 200 ms are applied, has been used to study cortical inhibition (Valls-Solé et al., 1992; Nakamura et al., 1997) and reflects the activity of GABA-B receptors (McDonnell et al., 2006; Opie et al., 2017). While many studies have shown that RMT and LICI offer valuable biological markers in different neurological disorders (Fatih et al., 2021; Guerra et al., 2021; Mimura et al., 2021; Versace et al., 2021), only a few have explored their association with brain health and cognitive performance in healthy, cognitive-unimpaired, middle-aged adults, and how biological sex affects the results (Schicktanz et al., 2014; Akilan et al., 2020).

This study aimed to fill this knowledge gap by investigating the relationship between E/I balance in the primary motor cortex measured with RMT and LICI and cognition in healthy middle-aged adults. Since the GABA-B receptor might be a target for improving cognitive dysfunction and memory/learning impairment (Vlachou, 2022), we hypothesized that better cognitive performance would be associated with more intracortical inhibition, estimated with LICI, and reduced cortical excitability, measured with RMT. Also, differences between women and men were expected, at least for LICI, considering biological sex differences in GABA neurotransmitters highlighted above.

Materials and methods

Subjects and study design

Ninety-seven healthy and right-handed volunteers [53 male; laterality ≥75%, (Oldfield, 1971)], between 41 and 65 years (M = 54; SD = 7.14), participated in this study. They were part of the Barcelona Brain Health Initiative (BBHI), an ongoing, longitudinal cohort study (Cattaneo et al., 2018). They underwent a TMS session with EMG registration and neuropsychological testing. Exclusion criteria included any neurological or psychiatric diagnosis, currently taking medication that could affect the central nervous system, substance abuse or dependence (alcohol, caffeine, drugs), pregnancy (Rossini et al., 2015; Rossi et al., 2021), and any contraindication for TMS or magnetic resonance imaging (MRI). All participants gave written informed consent, and the local

10.3389/fpsyg.2022.998062

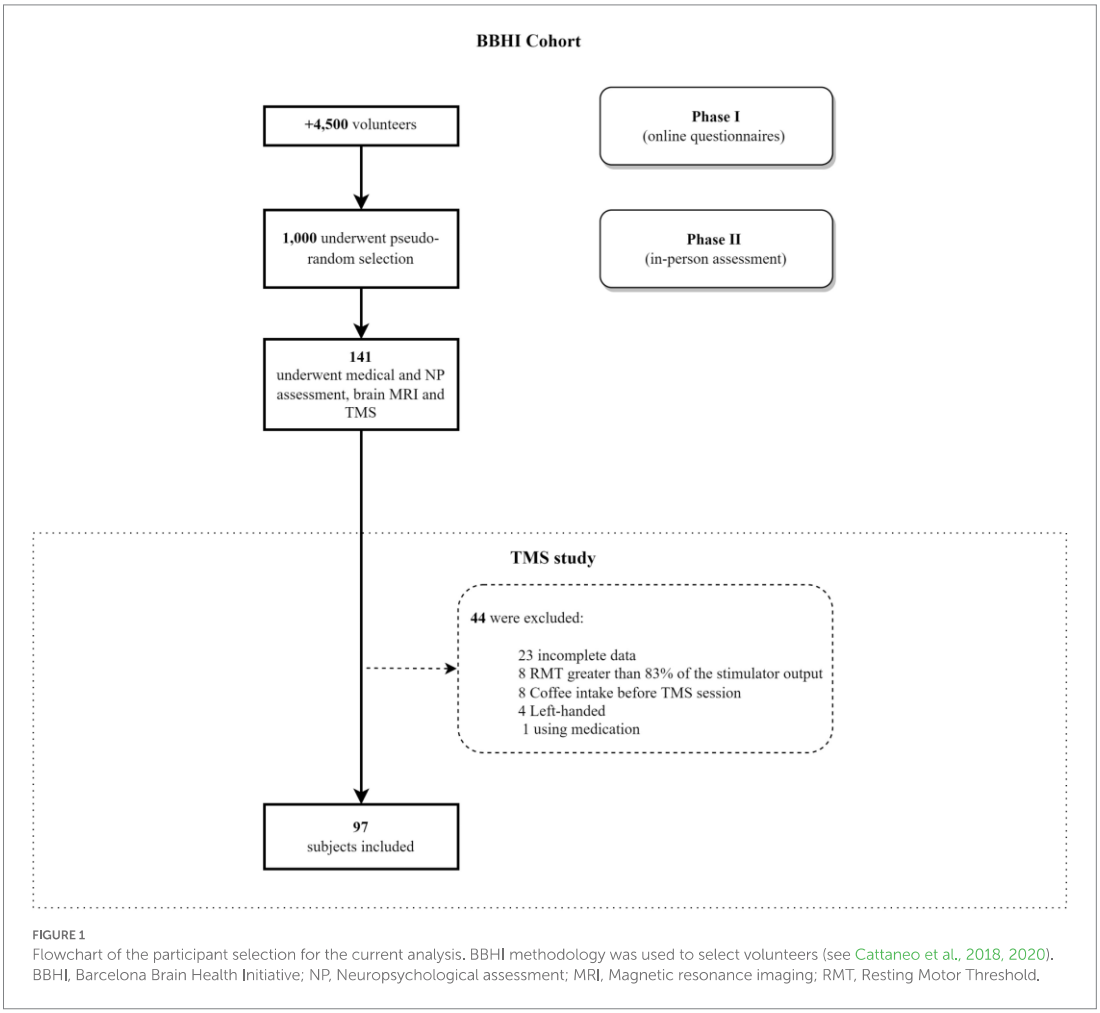

FIGURE 1
Flowchart of the participant selection for the current analysis. BBHI methodology was used to select volunteers (see Cattaneo et al., 2018, 2020). BBHI, Barcelona Brain Health Initiative; NP, Neuropsychological assessment; MRI, Magnetic resonance imaging; RMT, Resting Motor Threshold.

ethics committee (Comité d'Ètica i Investigació Clínica de la Unió Catalana d'Hospitals) approved the study protocol, which followed the Declaration of Helsinki. A cohort diagram from the BBHI study and the specific selection of this study participants is shown in Figure 1.

TMS protocol

Participants were asked to sit as still as possible in a comfortable armchair, keep their eyes open, and look at a fixation cross at a distance of approximately 1.5 m. A figure of eight TMS coil was placed at a 45-degree angle (relative to the mid-sagittal plane) over the left primary motor cortex (left-M1), resulting in a posterior-to-anterior current flow. Consistency in the stimulation targeting was ensured using a frameless stereotactic neuronavigation system (Brainsight, Rogue Research Inc., Montreal, QC Canada) guided by each subject's T1 weighted structural MRI (previously obtained from a 3 T Siemens Magnetom Prisma). MRI was completed for this purpose to increase safety during TMS sessions and exclude any brain lesion that could act as a confounder in interpreting the results.

The TMS procedure lasted approximately 1 h. First, RMT was determined as the minimum TMS intensity that elicited MEPs of more than 50 μV in five out of 10 trials in the relaxed, contralateral first dorsal interosseus muscle (FDI; Rossini et al., 2015). MEP amplitude was defined as the peak-to-peak difference in EMG activity from the evoked response in this muscle. Next, 120 paired-pulse TMS stimuli were delivered to the left-M1 at random intervals between 3 and 6 s. The intensities of both pulses were applied at 120% of RMT, and the ISI was 100 ms, selecting this interval because it was reportedly optimal (Sanger et al., 2001), and previous research has suggested age-related changes at it (McGinley et al., 2010; Opie et al., 2015, 2018). From this

10.3389/fpsyg.2022.998062

stimulation, LICI was calculated using the following formula (Guerra et al., 2021):

$$LICI = \left(\frac{\text{MEP amplitude conditioned stimulus}}{\text{MEP amplitude unconditioned stimulus}} \right) * 100$$

Consequently, a greater LICI value indicates lower cortical inhibition, while a smaller LICI indicates greater inhibition.

The protocol was completed using a figure-of-eight Cool-B65 coil connected to a Medtronic MagPro X100 stimulator (MagVenture A/S, Denmark). For the electromyography, a Biopac EMG100C amplifier (BIOPAC Systems INC., California, United States) was used with surface electrodes placed in a belly-tendon montage and the ground electrode on the ulnar styloid.

Neuropsychological assessment

A licensed neuropsychologist performed a battery of neurocognitive paper and pencil evaluations. The battery included the following tests: Trail Making Test A and B (TMT) (Reitan and Wolfson, 1985; Peña-Casanova et al., 2012), Digit-Span Forward and Backward, Corsi block tapping test, Letter-Number Sequencing test (Peña-Casanova et al., 2012), Matrix Reasoning and Block design, the Digit symbol task, the Cancelation test (Wechsler, 2012), the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT; Schmidt, 1996; Alviarez-Schulze et al., 2022b), and the Spanish Version of the Face Name Associative Memory Exam (S-FNAME; Alegret et al., 2015; Alviarez-Schulze et al., 2022a).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed in SPSS version 22.0 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, United States).

First, raw scores of each cognitive test were z-score normalized, and principal component analysis (PCA) was run to group them into cognitive domains, in line with our and other research group's previous studies (España-Irla et al., 2021; Cattaneo et al., 2022; Hinchman et al., 2022; Redondo-Camós et al., 2022). Loading values were above 0.3. Kaiser–Meyer–Olkin (KMO = 0.689) and Bartlett's test of sphericity ($\chi^2 = 1074.67$, df = 105; $p < 0.001$) were satisfactory. PCA revealed four components of cognitive domains. The first factor contained TMT B (−0.927), TMT B-A (−0.884), TMT A (−0.615), Digit symbol task (0.554), and cancelation test (0.423), reflecting what can be considered an attentional domain. The second factor characterized memory and involved face name (0.609) and RAVLT measures such as immediate recall (0.885), delayed recall (0.872), and recognition (0.830). The third factor reflected a working memory domain and included the digit forward (0.780), digit backward (0.777), and letter-number sequencing (0.504). The fourth factor contained Block design (0.758), Corsi blocks (0.678), and matrix reasoning (0.620), representing a reasoning component. Ultimately, a global cognition score was created as the sum of the individual z-scores on each neuropsychological test.

Cognitive composite scores were used as dependent variables (attention, working memory, episodic memory, reasoning, and global cognition) and RMT, LICI, MEP amplitude, age, biological sex, and years of education as predictors. We ran multiple multivariate regressions to identify possible associations between motor cortical excitability (measured by RMT), inhibition (LICI), and cognition. Then, for significant results, we ran multiple linear regressions to assess the direction of the prediction. Assumptions of linearity, independence of residuals, homoscedasticity, multicollinearity, and normality were met in all models. Furthermore, to study how biological sex could affect the predictions, we did all the previous analysis segmenting by biological sex. Lastly, to explore possible differences between means of women and men on each variable, a t-test analysis was performed.

Results

Sample descriptive statistics of RMT, LICI, MEP Amplitude, age, biological sex, and educational level are presented in Table 1, while cognitive scores are in Table 2.

Associations between RMT, LICI, and cognitive functions

Multivariate regression analysis for all the subjects revealed statistically significant associations between LICI and working memory [$F(1, 89) = 7.59$, $p = 0.007$; partial $\eta 2 = 0.079$], and biological sex and episodic memory [$F(1, 89) = 9.50$, $p = 0.003$; partial $\eta 2 = 0.0996$] and reasoning [$F(1, 89) = 4.26$, $p = 0.042$; partial $\eta 2 = 0.046$]. Finally, age was significantly associated to all

TABLE 1 Demographic Variables, RMT and LICI (n=97).

	All (n = 97)		Male (n = 53)		Female (n = 44)		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	p
Age	53.69	7.13	53.49	7.40	53.93	6.87	0.762
Years of education	17.85	3.81	17.66	4.17	18.07	3.35	0.595
RMT (%)	62.28	9.60	61.64	10.54	63.05	8.4	0.467
LICI (%)	14.68	18.81	17.35	20.33	11.46	16.45	0.118
MEP amplitude (mV)	0.305	0.201	0.309	0.173	0.323	0.232	0.747

RMT, resting motor threshold; LICI, long-interval intracortical inhibition; MEP, motor evoked potential.

10.3389/fpsyg.2022.998062

TABLE 2 Cognitive scores (n=97).

	All (n = 97)		Male (n = 53)		Female (n = 44)		
Cognitive task	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	**Mean**	**SD**	***p***
S-FNAME	41.62	14.65	39.00	14.12	44.77	14.81	0.054
RAVLT immediate recall	52.19	9.65	50.60	9.93	54.10	9.06	0.074
RAVLT delayed recall	11.46	2.79	11.04	2.78	11.98	2.74	0.098
RAVLT recognition	14.28	1.25	14.17	1.27	14.41	1.23	0.348
Digit-span forward	10.63	2.86	11.02	2.87	10.16	2.79	0.140
Digit-span backward	11.38	2.60	11.68	2.66	11.02	2.50	0.214
Corsi block tapping	14.35	2.41	14.38	2.51	14.32	2.31	0.904
Letter-number sequencing	5.72	1.08	5.66	1.14	5.80	1.00	0.542
Matrix reasoning WAIS-IV	13.91	2.58	14.32	2.38	13.41	2.75	0.087
Block design WAIS-IV	12.00	3.14	12.74	3.01	11.11	3.10	0.011*
TMT A	11.26	2.51	11.28	2.76	11.23	2.22	0.912
TMT B	8.65	2.18	8.91	2.14	8.34	2.22	0.208
Cancelation test	42.09	8.17	42.04	8.67	42.16	7.63	0.942
Digit symbol task	13.84	2.56	13.51	2.49	14.23	2.60	0.171

S-FNAME, Spanish Version of the Face Name Associative Memory Exam; RAVLT immediate recall, Recall a list of words immediately after hearing it of Rey Auditory Verbal Learning Test; RAVLT delayed recall, RAVLT recall after 30 min; RAVLT recognition, Recognition of words from a word list of RAVLT; Digit-Span Forward, Immediate recall a series of numbers in the same order; Letter-Number Sequencing, Sequence a random order of numbers and letter; Matrix Reasoning WAIS-IV, Logical sequences and series of Wechsler Adult Intelligence Scale-IV; Block Design WAIS-IV, Block Design of Wechsler Adult Intelligence Scale-IV; TMT B, Trail Making Test part B; TMT A, Trail Making Test part A; Digit symbol task, Digit symbol association; Cancelation test, cancelation task of WAIS-IV. All punctuations presented in this table are normalized scores except RAVLT tests that are raw scores.
*$p < 0.05$.

cognitive functions (attention [F (1, 89) = 17.38, $p < 0.001$; partial $\eta 2 = 0.163$], episodic memory [$F(1, 89) = 10.01$, $p = 0.002$; partial $\eta 2 = 0.101$], working memory [$F(1, 89) = 5.45$, $p = 0.022$; partial $\eta 2 = 0.058$], reasoning [$F(1, 89) = 6.66$, $p = 0.011$; partial $\eta 2 = 0.070$], and global cognition [$F(1, 89) = 14.50$, $p < 0.001$; partial $\eta 2 = 0.140$]).

After running this model, we ran a multiple regression to assess the direction of the prediction using the working memory domain as a dependent variable and LICI, RMT, MEP amplitude, age, biological sex, and education as regressors. The model significantly explained working memory performance, [$F(6, 89) = 2.630$, $p = 0.021$, adj. $R^2 = 0.093$], and LICI resulted negatively associated with it (Standardized $\beta = -0.282$, $t = -2.754$, $p = 0.007$), being greater motor cortical inhibition related to better working memory (Figure 2).

Effect of biological sex

To investigate possible differences in the association between cognitive performance and cortical E/I, we split the sample according to biological sex and repeated regressions for both groups.

Men

Multivariate regressions were done to test the direct effects of RMT, LICI, MEP amplitude, and covariates on each cognitive domain. They revealed an association between LICI and working memory [$F(1, 47) = 6.60$, $p = 0.013$, partial $\eta 2 = 0.123$], reasoning [$F(1, 47) = 5.82$, $p = 0.020$, partial $\eta 2 = 0.110$], and global cognition [$F(1, 47) = 9.22$, $p = 0.004$, partial $\eta 2 = 0.164$]. Also, education was related to reasoning [$F(1, 47) = 6.02$, $p = 0.018$, partial $\eta 2 = 0.114$] and episodic memory [$F(1, 47) = 4.15$, $p = 0.047$, partial $\eta 2 = 0.081$], and age to all cognitive domains (attention [$F(1, 47) = 4.18$, $p = 0.047$; partial $\eta 2 = 0.082$], episodic memory [$F(1, 47) = 8.37$, $p = 0.006$; partial $\eta 2 = 0.151$], working memory [$F(1, 47) = 4.64$, $p = 0.03$; partial $\eta 2 = 0.090$], reasoning [$F(1, 47) = 9.01$, $p = 0.004$; partial $\eta 2 = 0.161$], and global cognition [$F(1, 47) = 7.40$, $p = 0.009$; partial $\eta 2 = 0.136$]).

Furthermore, multiple regression models including covariates showed that working memory was associated with LICI (Standardized $\beta = -0.347$, $t = -2.569$, $p = 0.013$) and age (Standardized $\beta = 0.284$, $t = 2.155$, $p = 0.036$). Also, reasoning was related to LICI (Standardized $\beta = -0.302$, $t = -2.411$, $p = 0.020$), age (Standardized $\beta = -0.367$, $t = -3.022$, $p = 0.004$) and education level (Standardized $\beta = 0.307$, $t = 2.454$, $p = 0.018$). Finally, global cognition was also associated with LICI (Standardized $\beta = -0.380$, $t = -3.036$, $p = 0.004$) and age (Standardized $\beta = -0.332$, $t = -2.721$, $p = 0.009$). In all three models, LICI was negatively associated with working memory, reasoning, and global cognition in men (Figure 3).

Women

Only were significant associations between age and attention [$F(1, 37) = 11.65$, $p = 0.002$; partial $\eta 2 = 0.240$]. No significant results were seen between women's cognition and cortical excitability or inhibition.

Discussion

The current study explored the relationship between cortical measures of E/I balance in the primary motor cortex, using TMS measures of RMT and LICI, and cognitive performance in healthy, cognitively-unimpaired middle-aged adults. Moreover, we studied

10.3389/fpsyg.2022.998062

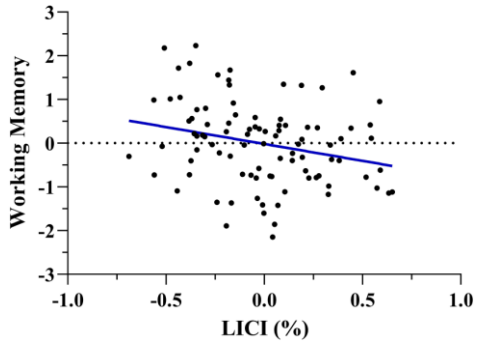

FIGURE 2
Multiple regression scatterplots between LICI and working memory after controlling age, biological sex, and years of education. Z-scores were used on the Y-axis and unstandardized Predicted Values on the X-axis (%). A lower LICI value, indicative of more intracortical motor inhibition, was related to better working memory performance.

the impact of biological sex on this association. Our results reveal that lower LICI in the motor cortex is associated with better working memory performance in the whole sample. The effect appears primarily accounted for by men, in whom LICI was found to be related to increased working memory, reasoning, and global cognition. RMT was not associated with cognitive functions in men or women.

Our results are in line with previous research investigating physiological mechanisms of neurological disorders, showing that motor hyperexcitability is related to global cognitive dysfunction (Takahashi et al., 2013; Higashihara et al., 2021; Zadey et al., 2021) due to increased excitatory activity or/and an inhibitory deficit (Joseph et al., 2021; Meder et al., 2021; Mimura et al., 2021). Similarly, in healthy subjects, it has been found that hyperexcitability of the motor cortex is associated with impaired attention (Bolden et al., 2017; Akilan et al., 2020), suggesting that cortical excitatory and inhibitory balance is necessary for optimal brain and cognitive functioning (Páscoa dos Santos and Verschure, 2022).

The relationship between cognition and motor cortex activity could result from the functional connectivity between brain regions involved in cognitive processing (Bates and Goldman-Rakic, 1993; Hasan et al., 2013). For example, the prefrontal cortex is essential for the performance of higher cognitive functions, and the perturbation of its structure or functionality, such as occurs in aging or Alzheimer's disease (Salat et al., 2001; Peters, 2006), could alter the cortical excitability of it (Noda et al., 2017) and highly connected areas such as motor cortex (Freeman et al., 2016). These areas could share evolutive roots, and their interaction is needed to govern the executive function and the intentionality of movements (Mendoza and Merchant, 2014; Leisman et al., 2016). Working memory (Carruthers, 2013; Liao et al., 2014; Leisman et al., 2016), attention, and learning (Bhattacharjee et al., 2021) are

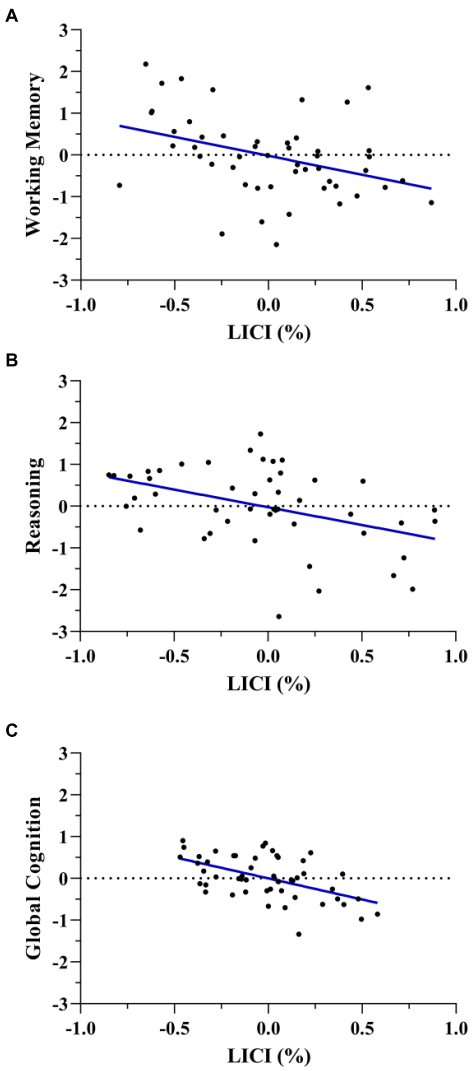

FIGURE 3
Multiple regression scatterplots between LICI and working memory **(A)**, reasoning **(B)**, and global cognition **(C)** after controlling age and years of education in men. Z-scores were used on the Y-axis and unstandardized Predicted Values on the X-axis (%).

some of the cognitive functions that have been related to motor processes.

Interestingly, only intracortical motor inhibition was positively associated with cognitive performance, particularly working memory, necessary to serve other cognitive functions (Mansouri et al., 2015), and defined as a limited capacity system allowing the temporary storage and manipulation of information required for such complex processes (Baddeley, 2000). Indeed, we found that LICI was also related to reasoning and global

cognition in men, possibly because working memory could play a role in these cognitive functions (Hambrick and Engle, 2003; Wiley and Jarosz, 2012). Given that in our study, intracortical motor inhibition was measured using the LICI paradigm that reflects GABA-B inhibitory neurotransmission (Valls-Solé et al., 1992), we believe that its alteration was associated with cognitive changes. GABA-B receptor indeed has been previously linked to memory formation (Terunuma et al., 2014; Almasi et al., 2018) and working memory (Bañuelos et al., 2014; Schmidt-Wilcke et al., 2018). Furthermore, Freeman et al. (2016) found increased intracortical inhibition in the motor cortex under high working memory load tasks, indicating an association between it and the balance of excitatory/inhibitory activity. These results demonstrate that working memory, even if it strongly involves prefrontal cortex activity, depending on the task's difficulty, requires motor inhibition to work efficiently (Freeman et al., 2016). It was also supported by the results of Liao et al. (2014), which demonstrated the specific involvement of the primary motor cortex and the motor network in working memory processing (Liao et al., 2014).

Specifically, the psychometric measures included in the working memory domain are exclusively auditory-verbal tests. Within the multicomponent working memory model (Baddeley, 2000), one of the most cited in the literature (Chai et al., 2018), our study data reflect the phonological loop subcomponent, responsible for holding verbal information using a temporary store and an articulatory rehearsal system, and the central executive subcomponent responsible for the active manipulation (serial ordering) of the information. Previous findings have shown a double anatomical dissociation in which the subprocess of temporal retention of verbal information depends predominantly on the superior temporal gyrus. However, the subprocess of information manipulation in backward items with higher cognitive load involves, in addition to, the prefrontal area, motor, and somatosensory cortex (Ghaleh et al., 2020).

Furthermore, when we split the sample for biological sex, we observed that women presented subtly higher inhibition than men, which was not statistically significant. This result is in line with previous studies showing that inhibition, usually superior in women, could be influenced by different functional brain maturation of the inhibitory system (Rubia et al., 2013), variations of the brain areas activated (Bell et al., 2006; Li et al., 2006; Korzhyk et al., 2019), and ovarian hormones (Hosseini-Kamkar and Bruce Morton, 2014; Shibuya et al., 2016).

Crucially, we found a positive association between cognition (working memory and reasoning) and intracortical inhibition only in men. Very little is present in the literature on this issue, and the few existing pieces of evidence appear somehow contradictory. Schicktanz et al. (2014) observed that lower motor cortical excitability was related to better working memory in men (Schicktanz et al., 2014), while Akilan et al. (2020) observed that an increase in cortical excitability was related to global cognition in women (Akilan et al., 2020). However, beyond these inconsistencies, which need and deserve deeper study, previous and our results confirm the existence of biological sex differences (Schicktanz et al., 2014; Akilan et al., 2020) in the relation between cortical excitability/inhibition and cognition.

This research increases our knowledge of this association and suggests that greater intracortical inhibition, measured by LICI, is a possible marker of interindividual differences in working memory performance among healthy middle-aged adults, extending previous suggestions as a biomarker of neuropsychiatric disorders (Fatih et al., 2021).

Finally, the findings in this report are subject to some limitations. First, this is a cross-sectional study, and we cannot determine a cause-effect relationship between cortical excitability measures and cognitive performance. It is necessary to deepen in future research the relationship described in our study, including visuospatial working memory tests and other tasks with different levels of cognitive load and, within the manipulation process, not only serial ordering but updating processing, such as n-back paradigm. Defining which specific working components are related to the TMS measure studied is essential. Also, these processes differ in their sensitivity to advancing age (Jablonska et al., 2020); hence, future investigations should be conducted in other age groups, including middle and older age samples. Furthermore, we explored two TMS measures (RMT and LICI), but it would be interesting to consider other LICI ISI (50 ms, 150 ms, and 200 ms) and paradigms such as short-interval intracortical inhibition or intracortical facilitation. Ultimately, emotional state, sleep quality, and menstrual cycle variations (in particular when considering younger women populations) should be considered in future analysis, being this latter one relevant due to its impact on the female brain and needing specific investigations on this gender group (Hidalgo-Lopez et al., 2020; Meeker et al., 2020).

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The studies involving human participants were reviewed and approved by Comité d'Ètica i Investigació Clínica de la Unió Catalana d'Hospitals. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

Author contributions

AP-L, DB-F, and JT participated in the initial conception of the design of the BBHI project. MR-C, DB-F, AP-L, and GC contributed to the conception and design of the present study. MR-C, SD-G, GE-I, VA-S, SA, RP-A, and JS-S contributed to the data acquisition. MR-C and GC analyzed the data. MR-C,

GC, and DB-F contributed to the first draft of the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Funding

DB-F and RP-A were funded by a Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (MICIU/FEDER; RTI2018-095181-B-C21) and also supported by an ICREA Academia 2019 grand award. RP-A was supported by a fellowship from "la Caixa" Foundation (ID 100010434, Fellowship code: LCF/BQ/DI19/11730050), JT was partly supported Fundació Joan Ribas (Araquistain_FJRA), AGAUR, Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca. Convocatòria 2018 d'Indústria del Coneixement (modalitat PRODUCTE) and FEDER, Fons Europeu de Desenvolupament Regional (2018 PROD 00172), Fundació La Marató De TV3 (201735.10), and European Commission—H2020/Call H2020-SC1-2016-2017 (RIA; grant agreement no. 777107). AP-L was partly supported by the National Institutes of Health (R24AG06142 and P01 AG031720) and the Barcelona Brain Health Initiative funded primarily by "La Caixa" (LCF/PR/PR16/11110004). The funders were not involved in the study design, collection, analysis, interpretation of data, the writing of this article or the decision to submit it for publication.

Acknowledgments

A special thanks is extended to all BBHI participants, the project team and research assistants, and other partners (Ad-Salutem Institute, Sodexo, I.C.A. Informàtica y Comunicaciones Avanzadas, Neuroelectrics, Corporació Catalana de Mitjans Audiovisuals, Club Metropolitan, Casa Ametller, and Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya-AQuAS) for their collaboration. The organisations listed were not involved in the study design, collection, analysis, interpretation of data, the writing of this article or the decision to submit it for publication.

Conflict of interest

AP-L is a co-founder of Linus Health and TI Solutions AG; serves on the scientific advisory boards for Starlab Neuroscience, Magstim Inc., Radiant Hearts, Skin2Neuron, TetraNeuron, and MedRhythms; is listed as an inventor on several issued and pending patents on the real-time integration of noninvasive brain stimulation with electroencephalography and magnetic resonance imaging.

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

References

Akilan, K., Kumar, S., Zomorrodi, R., Blumberger, D. M., Daskalakis, Z. J., and Rajji, T. K. (2020). Gender impact on transcranial magnetic stimulation-based cortical excitability and cognition relationship in healthy individuals. *Neuroreport* 31, 287–292. doi: 10.1097/WNR.0000000000001392

Alegret, M., Valero, S., Ortega, G., Espinosa, A., Sanabria, A., Hernández, I., et al. (2015). Validation of the Spanish version of the face name associative memory exam (S-FNAME) in cognitively normal older individuals. *Arch. Clin. Neuropsychol.* 30, 712–720. doi: 10.1093/arclin/acv050

Almasi, A., Zarei, M., Raoufi, S., Sarihi, A., Salehi, I., Komaki, A., et al. (2018). Influence of hippocampal GABAB receptor inhibition on memory in rats with acute β-amyloid toxicity. *Metab. Brain Dis.* 33, 1859–1867. doi: 10.1007/s11011-018-0292-5

Alviarez-Schulze, V., Cattaneo, G., Pachón-García, C., Solana-Sánchez, J., Tormos, J. M., Pascual-Leone, A., et al. (2022b). Validation and normative data of the Spanish version of the Rey auditory verbal learning test and associated long-Term forgetting measures in middle-aged adults. *Front. Aging Neurosci.* 14:809019. doi: 10.3389/fnagi.2022.809019

Alviarez-Schulze, V., Cattaneo, G., Pachón-García, C., Solana-Sánchez, J., Tormos-Muñoz, J. M., Alegret, M., et al. (2022a). Validation and normative data of the Spanish version of the face name associative memory exam (S-FNAME). *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 28, 74–84. doi: 10.1017/S1355617721000084

Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends Cogn. Science* 4, 417–423. doi: 10.1016/S1364-6613(00)01538-2

Bañuelos, C., Sofia Beas, B., McQuail, J. A., Gilbert, R. J., Frazier, C. J., Setlow, B., et al. (2014). Prefrontal cortical GABAergic dysfunction contributes to age-related working memory impairment. *J. Neurosci.* 34, 3457–3466. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5192-13.2014

Bates, J. F., and Goldman-Rakic, P. S. (1993). Prefrontal connections of medial motor areas in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 336, 211–228. doi: 10.1002/cne.903360205

Bell, E. C., Willson, M. C., Wilman, A. H., Dave, S., and Silverstone, P. H. (2006). Males and females differ in brain activation during cognitive tasks. *Neuroimage* 30, 529–538. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.09.049

Bhattacharjee, S., Kashyap, R., Abualait, T., Annabel Chen, S. H., Yoo, W. K., and Bashir, S. (2021). The role of primary motor cortex: more than movement execution. *J. Mot. Behav.* 53, 258–274. doi: 10.1080/00222895.2020.1738992

Bolden, L. B., Griffis, J. C., Pati, S., and Szaflarski, J. P. (2017). Cortical excitability and neuropsychological functioning in healthy adults. *Neuropsychologia* 102, 190–196. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2017.06.028

Bruining, H., Hardstone, R., Juarez-Martinez, E. L., Sprengers, J., Avramiea, A. E., Simpraga, S., et al. (2020). Measurement of excitation-inhibition ratio in autism spectrum disorder using critical brain dynamics. *Sci. Rep.* 10, 9195–9115. doi: 10.1038/s41598-020-65500-4

Calvin, O. L., and Redish, A. D. (2021). Global disruption in excitation-inhibition balance can cause localized network dysfunction and schizophrenia-like context-integration deficits. *PLoS Comput. Biol.* 17:e1008985. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008985

Carruthers, P. (2013). Evolution of working memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 10371–10378. doi: 10.1073/PNAS.1301195110

Cattaneo, G., Bartrés-Faz, D., Morris, T. P., Sánchez, J. S., Macià, D., Tarrero, C., et al. (2018). The Barcelona brain health initiative: a cohort study to define and promote determinants of brain health. *Front. Aging Neurosci.* 10:321. doi: 10.3389/fnagi.2018.00321

Cattaneo, G., Bartrés-Faz, D., Morris, T. P., Sánchez, J. S., Macià, D., Tormos, J. M., et al. (2020). The Barcelona brain health initiative: cohort description and first follow-up. *PLoS One* 15:e0228754. doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0228754

Cattaneo, G., Solana-Sánchez, J., Abellaneda-Pérez, K., Portellano-Ortiz, C., Delgado-Gallén, S., Alviarez Schulze, V., et al. (2022). Sense of coherence mediates the relationship between cognitive reserve and cognition in middle-aged adults. *Front. Psychol.* 13:835415. doi: 10.3389/fpsyg.2022.835415

Cespón, J., Pellicciari, M. C., Casula, E. P., and Miniussi, C. (2022). Age-related changes in cortical excitability linked to decreased Attentional and inhibitory control. *Neuroscience* 495, 1–14. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.05.021

Chai, W. J., Abd Hamid, A. I., and Abdullah, J. M. (2018). Working memory from the psychological and neurosciences perspectives: a review. *Front. Psychol.* 9:401. doi: 10.3389/FPSYG.2018.00401

Cosgrove, K. P., Mazure, C. M., and Staley, J. K. (2007). Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function, and chemistry. *Biol. Psychiatry* 62, 847–855. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.03.001

Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Pilato, F., Saturno, E., Dileone, M., Marra, C., et al. (2004). Motor cortex hyperexcitability to transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 75, 555–559. doi: 10.1136/jnnp.2003.018127

España-Irla, G., Gomes-Osman, J., Cattaneo, G., Albu, S., Cabello-Toscano, M., Solana-Sanchéz, J., et al. (2021). Associations between cardiorespiratory fitness, cardiovascular risk, and cognition are mediated by structural brain health in midlife. *J. Am. Heart Assoc.* 10:e020688. doi: 10.1161/JAHA.120.020688

Fatih, P., Kucuker, M. U., Vande Voort, J. L., Doruk Camsari, D., Farzan, F., and Croarkin, P. E. (2021). A systematic review of long-interval Intracortical inhibition as a biomarker in neuropsychiatric disorders. *Front. Psych.* 12:678088. doi: 10.3389/fpsyt.2021.678088

Ferreri, F., and Rossini, P. M. (2013). TMS and TMS-EEG techniques in the study of the excitability, connectivity, and plasticity of the human motor cortex. *Rev. Neurosci.* 24, 431–442. doi: 10.1515/revneuro-2013-0019

Freeman, S. M., Itthipuripat, S., and Aron, A. R. (2016). High working memory load increases intracortical inhibition in primary motor cortex and diminishes the motor affordance effect. *J. Neurosci.* 36, 5544–5555. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0284-16.2016

Ghaleh, M., Lacey, E. H., Fama, M. E., Anbari, Z., Demarco, A. T., and Turkeltaub, P. E. (2020). Dissociable mechanisms of verbal working memory revealed through multivariate lesion mapping. *Cereb. Cortex* 30, 2542–2554. doi: 10.1093/CERCOR/BHZ259

Guerra, A., Rocchi, L., Grego, A., Berardi, F., Luisi, C., and Ferreri, F. (2021). Contribution of TMS and TMS-EEG to the understanding of mechanisms underlying physiological brain aging. *Brain Sci.* 11:405. doi: 10.3390/brainsci11030405

Hambrick, D. Z., and Engle, R. W. (2003). "The role of working memory in problem solving," in *The psychology of problem solving*. eds. J. E. Davidson and R. J. Sternberg (Cambridge: Cambridge University Press), 176–206.

Hasan, A., Galea, J. M., Casula, E. P., Falkai, P., Bestmann, S., and Rothwell, J. C. (2013). Muscle and timing-specific functional connectivity between the dorsolateral prefrontal cortex and the primary motor cortex. *J. Cogn. Neurosci.* 25, 558–570. doi: 10.1162/jocn_a_00338

Hermans, L., Levin, O., Maes, C., van Ruitenbeek, P., Heise, K. F., Edden, R. A. E., et al. (2018). GABA levels and measures of intracortical and interhemispheric excitability in healthy young and older adults: an MRS-TMS study. *Neurobiol. Aging* 65, 168–177. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.01.023

Hidalgo-Lopez, E., Mueller, K., Harris, T. A., Aichhorn, M., Sacher, J., and Pletzer, B. (2020). Human menstrual cycle variation in subcortical functional brain connectivity: a multimodal analysis approach. *Brain Struct. Funct.* 225, 591–605. doi: 10.1007/s00429-019-02019-z

Higashihara, M., Pavey, N., van den Bos, M., Menon, P., Kiernan, M. C., and Vucic, S. (2021). Association of Cortical Hyperexcitability and Cognitive Impairment in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 96, e2090–e2097. doi: 10.1212/WNL.0000000000011798

Hinchman, C. A., Cabral, D. F., Ciesla, M., Flothmann, M., Nunez, C., Rice, J., et al. (2022). Exercise engagement drives changes in cognition and cardiorespiratory fitness after 8 weeks of aerobic training in sedentary aging adults at risk of cognitive decline. *Front. Rehabil. Sci.* 3:923141. doi: 10.3389/FRESC.2022.923141

Hosseini-Kamkar, N., and Bruce Morton, J. (2014). Sex differences in self-regulation: an evolutionary perspective. *Front. Neurosci.* 8:233. doi: 10.3389/fnins.2014.00233

Jablonska, K., Piotrowska, M., Bednarek, H., Szymaszek, A., Marchewka, A., Wypych, M., et al. (2020). Maintenance vs. manipulation in auditory verbal working memory in the elderly: new insights based on temporal dynamics of information processing in the millisecond time range. *Front. Aging Neurosci.* 12:194. doi: 10.3389/FNAGI.2020.00194

Joseph, S., Patterson, R., Wang, W., Blumberger, D. M., Rajji, T., and Kumar, S. (2021). Quantitative assessment of cortical excitability in Alzheimer's dementia and its association with clinical symptoms: a systematic review and meta-analyses. *J. Alzheimers Dis.* 88, 867–891. doi: 10.3233/jad-210311

Khedr, E. M., Ahmed, M. A., Darwish, E. S., and Ali, A. M. (2011). The relationship between motor cortex excitability and severity of Alzheimer's disease: a transcranial magnetic stimulation study. *Neurophysiol. Clin.* 41, 107–113. doi: 10.1016/j.neucli.2011.03.002

Kobayashi, M., and Pascual-Leone, A. (2003). Transcranical magnetic stimulation in neurology. *Lancet* 2, 145–156. doi: 10.1016/S1474-4422(03)00321-1

Korzhyk, O., Morenko, O., Morenko, A., and Kotsan, I. (2019). Gender differences in brain processes during inhibition of manual movements programs. *Ann. Neurosci.* 26, 4–9. doi: 10.5214/ans.0972.7531.260103

Leisman, G., Moustafa, A. A., and Shafir, T. (2016). Thinking, walking, talking: Integratory motor and cognitive brain function. *Front. Public Health* 4:94. doi: 10.3389/fpubh.2016.00094

Li, C., Shan, R., Huang, C., Constable, R. T., and Sinha, R. (2006). Gender differences in the neural correlates of response inhibition during a stop signal task. *Neuroimage* 32, 1918–1929. doi: 10.1016/j.neuroimage.2006.05.017

Liao, D. A., Kronemer, S. I., Yau, J. M., Desmond, J. E., and Marvel, C. L. (2014). Motor system contributions to verbal and non-verbal working memory. *Front. Hum. Neurosci.* 8:753. doi: 10.3389/fnhum.2014.00753

Maestú, F., de Haan, W., Busche, M. A., and DeFelipe, J. (2021). Neuronal excitation/inhibition imbalance: core element of a translational perspective on Alzheimer pathophysiology. *Ageing Res. Rev.* 69:101372. doi: 10.1016/j.arr.2021.101372

Mansouri, F. A., Rosa, M. G. P., Atapour, N., Sigala, N., Pardo-Vazquez, J. L., Champalimaud, F., et al. (2015). Working memory in the Service of Executive Control Functions SHORT-TERM STORAGE OF INFORMATION REQUIRED TO GUIDE ONGOING OR UPCOMING BEHAVIOR. *Front. Syst. Neurosci.* 9:166. doi: 10.3389/fnsys.2015.00166

McDonnell, M. N., Orekhov, Y., and Ziemann, U. (2006). The role of GABAB receptors in intracortical inhibition in the human motor cortex. *Exp. Brain Res.* 173, 86–93. doi: 10.1007/s00221-006-0365-2

McGinley, M., Hoffman, R. L., Russ, D. W., Thomas, J. S., and Clark, B. C. (2010). Older adults exhibit more intracortical inhibition and less intracortical facilitation than young adults. *Exp. Gerontol.* 45, 671–678. doi: 10.1016/j.exger.2010.04.005

Meder, A., Liepelt-Scarfone, I., Sulzer, P., Berg, D., Laske, C., Preische, O., et al. (2021). Motor cortical excitability and paired-associative stimulation-induced plasticity in amnestic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clin. Neurophysiol.* 132, 2264–2273. doi: 10.1016/j.clinph.2021.01.011

Meeker, T. J., Veldhuijzen, D. S., Keaser, M. L., Gullapalli, R. P., and Greenspan, J. D. (2020). Menstrual cycle variations in gray matter volume, white matter volume and functional connectivity: critical impact on parietal lobe. *Front. Neurosci.* 14:594588. doi: 10.3389/fnins.2020.594588

Mendoza, G., and Merchant, H. (2014). Motor system evolution and the emergence of high cognitive functions. *Prog. Neurobiol.* 122, 73–93. doi: 10.1016/J.PNEUROBIO.2014.09.001

Mimura, Y., Nishida, H., Nakajima, S., Tsugawa, S., Morita, S., Yoshida, K., et al. (2021). Neurophysiological biomarkers using transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 121, 47–59. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.12.003

Nakamura, H., Kitagawa, H., Kawaguchi, Y., and Tsuji, H. (1997). Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J. Physiol.* 498, 817–823. doi: 10.1113/jphysiol.1997.sp021905

Noda, Y., Zomorrodi, R., Cash, R. F. H., Barr, M. S., Farzan, F., Rajji, T. K., et al. (2017). Characterization of the influence of age on GABAA and glutamatergic mediated functions in the dorsolateral prefrontal cortex using paired-pulse TMS-EEG. *Aging (Albany. NY).* 9, 556–572. doi: 10.18632/aging.101178

Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness. *Neuropsychologia* 9, 97–113. doi: 10.1016/0028-3932(71)90067-4

Opie, G. M., Ridding, M. C., and Semmler, J. G. (2015). Age-related differences in pre- and post-synaptic motor cortex inhibition are task dependent. *Brain Stimul.* 8, 926–936. doi: 10.1016/J.BRS.2015.04.001

Opie, G. M., Rogasch, N. C., Goldsworthy, M. R., Ridding, M. C., and Semmler, J. G. (2017). Investigating TMS–EEG indices of long-interval Intracortical inhibition at different Interstimulus intervals. *Brain Stimul.* 10, 65–74. doi: 10.1016/j.brs.2016.08.004

Opie, G. M., and Semmler, J. G. (2014). Age-related differences in short- and long-interval intracortical inhibition in a human hand muscle. *Brain Stimul.* 7, 665–672. doi: 10.1016/j.brs.2014.06.014

Opie, G. M., Sidhu, S. K., Rogasch, N. C., Ridding, M. C., Semmler, J. G., and John, G. (2018). Cortical inhibition assessed using paired-pulse TMS-EEG is increased in older adults. *Brain Stimul.* 11, 545–557. doi: 10.1016/j.brs.2017.12.013

Páscoa dos Santos, F., and Verschure, P. F. M. J. (2022). Excitatory-inhibitory homeostasis and Diaschisis: tying the local and global scales in the post-stroke cortex. *Front. Syst. Neurosci.* 15:806544. doi: 10.3389/fnsys.2021.806544

Peña-Casanova, J., Casals-Coll, M., Quintana, M., Sánchez-Benavides, G., Rognoni, T., Calvo, L., et al. (2012). Estudios normativos españoles en población adulta joven (Proyecto NEURONORMA jóvenes): métodos y características de la muestra. *Neurologia* 27, 253–260. doi: 10.1016/j.nrl.2011.12.019

Pennisi, G., Ferri, R., Lanza, G., Cantone, M., Pennisi, M., Puglisi, V., et al. (2011). Transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease: a neurophysiological marker of cortical hyperexcitability. *J. Neural Transm.* 118, 587–598. doi: 10.1007/s00702-010-0554-9

Peters, R. (2006). Ageing and the brain. *Postgrad. Med. J.* 82, 84–88. doi: 10.1136/pgmj.2005.036665

Redondo-Camós, M., Cattaneo, G., Perellón-Alfonso, R., Alviarez-Schulze, V., Morris, T. P., Solana-Sanchez, J., et al. (2022). Local prefrontal cortex TMS-induced reactivity is related to working memory and reasoning in middle-aged adults. *Front. Psychol.* 13:813444. doi: 10.3389/fpsyg.2022.813444

Reitan, R. M., and Wolfson, D. (1985). *The Halstead-Reitan neuropsychological test battery: Theory and Interpretattion*. Tucson, AZ: Neuropsychology Press.

Rezzani, R., Franco, C., and Rodella, L. F. (2019). Sex differences of brain and their implications for personalized therapy. *Pharmacol. Res.* 141, 429–442. doi: 10.1016/j.phrs.2019.01.030

Rossi, S., Antal, A., Bestmann, S., Bikson, M., Brewer, C., Brockmöller, J., et al. (2021). Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: expert guidelines. *Clin. Neurophysiol.* 132, 269–306. doi: 10.1016/j.clinph.2020.10.003

Rossini, P. M., Burke, D., Chen, R., Cohen, L. G., Daskalakis, Z., Di Iorio, R., et al. (2015). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application: an updated report from an I.F.C.N. *Committee. Clin. Neurophysiol.* 126, 1071–1107. doi: 10.1016/j.clinph.2015.02.001

Rubia, K., Lim, L., Ecker, C., Halari, R., Giampietro, V., Simmons, A., et al. (2013). Effects of age and gender on neural networks of motor response inhibition: from adolescence to mid-adulthood. *Neuroimage* 83, 690–703. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.06.078

Salat, D. H., Kaye, J. A., and Janowsky, J. S. (2001). Selective preservation and degeneration within the prefrontal cortex in aging and Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 58, 1403–1408. doi: 10.1001/archneur.58.9.1403

Sanger, T. D., Garg, R. R., and Chen, R. (2001). Interactions between two different inhibitory systems in the human motor cortex. *J. Physiol.* 530, 307–317. doi: 10.1111/J.1469-7793.2001.0307L.X

Schicktanz, N., Schwegler, K., Fastenrath, M., Spalek, K., Milnik, A., Papassotiropoulos, A., et al. (2014). Motor threshold predicts working memory performance in healthy humans. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 1, 69–73. doi: 10.1002/acn3.22

Schmidt, M. (1996). *Rey auditory and verbal learning test: A handbook*. Los Ángeles: Western Psychological Services.

Schmidt-Wilcke, T., Fuchs, E., Funke, K., Vlachos, A., Müller-Dahlhaus, F., Puts, N. A. J., et al. (2018). GABA—from inhibition to cognition: emerging concepts. *Neuroscientist* 24, 501–515. doi: 10.1177/1073858417734530

Shibuya, K., Park, S. B., Geevasinga, N., Huynh, W., Simon, N. G., Menon, P., et al. (2016). Threshold tracking transcranial magnetic stimulation: effects of age and gender on motor cortical function. *Clin. Neurophysiol.* 127, 2355–2361. doi: 10.1016/j.clinph.2016.03.009

Sohal, V. S., and Rubenstein, J. L. R. (2019). Excitation-inhibition balance as a framework for investigating mechanisms in neuropsychiatric disorders. *Mol. Psychiatry* 24, 1248–1257. doi: 10.1038/s41380-019-0426-0

Sukenik, N., Vinogradov, O., Weinreb, E., Segal, M., Levina, A., and Moses, E. (2021). Neuronal circuits overcome imbalance in excitation and inhibition by adjusting connection numbers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118:e2018459118. doi: 10.1073/pnas.2018459118

Takahashi, S., Ukai, S., Kose, A., Hashimoto, T., Iwatani, J., Okumura, M., et al. (2013). Reduction of cortical GABAergic inhibition correlates with working memory impairment in recent onset schizophrenia. *Schizophr. Res.* 146, 238–243. doi: 10.1016/j.schres.2013.02.033

Terunuma, M., Revilla-Sanchez, R., Quadros, I. M., Deng, Q., Deeb, T. Z., Lumb, M., et al. (2014). Postsynaptic GABAB receptor activity regulates excitatory neuronal architecture and spatial memory. *J. Neurosci.* 34, 804–816. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3320-13.2013

Travica, N., Ried, K., Hudson, I., Sali, A., Scholey, A., and Pipingas, A. (2020). Gender differences in plasma vitamin C concentrations and cognitive function: a pilot cross-sectional study in healthy adults. *Curr. Dev. Nutr.* 4:nzaa038. doi: 10.1093/CDN/NZAA038

Valls-Solé, J., Pascual-Leone, A., Wassermann, E. M., and Hallett, M. (1992). Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Evoked Potentials* 85, 355–364. doi: 10.1016/0168-5597(92)90048-G

Versace, V., Sebastianelli, L., Ferrazzoli, D., Romanello, R., Ortelli, P., Saltuari, L., et al. (2021). Intracortical GABAergic dysfunction in patients with fatigue and dysexecutive syndrome after COVID-19. *Clin. Neurophysiol.* 132, 1138–1143. doi: 10.1016/j.clinph.2021.03.001

Vlachou, S. (2022). GABAB receptors and cognitive processing in health and disease. *Curr. Top Behav. Neurosci.* 52, 291–329. doi: 10.1007/7854_2021_231

Wechsler, D. (2012). "WAIS-IV. Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-IV" in *Manual De Aplicación Y Corrección* (Madrid: NCS Pearson, Inc.)

Wiley, J., and Jarosz, A. F. (2012). How working memory capacity affects problem solving. *Psychol. Learn. Motiv. Adv. Res. Theory* 56, 185–227. doi: 10.1016/B978-0-12-394393-4.00006-6

Zadey, S., Buss, S. S., McDonald, K., Press, D. Z., Pascual-Leone, A., and Fried, P. J. (2021). Higher motor cortical excitability linked to greater cognitive dysfunction in Alzheimer's disease: results from two independent cohorts. *Neurobiol. Aging* 108, 24–33. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2021.06.007

4.2. Artículo 2

Redondo-Camós M, Cattaneo G, Perellón-Alfonso R, Alviarez-Schulze V, Morris TP, Solana-Sánchez J, España-Irla G, Delgado-Gallén S, Pachón-García C, Albu S, Zetterberg H, Tormos JM, Pascual-Leone A and Bartres-Faz D (2022). Local Prefrontal Cortex TMS-Induced Reactivity Is Related to Working Memory and Reasoning in Middle-Aged Adults. Front. Psychol. 13:813444.

frontiers in Psychology

ORIGINAL RESEARCH
published: 10 February 2022
doi: 10.3389/fpsyg.2022.813444

Local Prefrontal Cortex TMS-Induced Reactivity Is Related to Working Memory and Reasoning in Middle-Aged Adults

María Redondo-Camós[1,2,3], *Gabriele Cattaneo*[1,2,3], *Ruben Perellón-Alfonso*[4,5], *Vanessa Alviarez-Schulze*[1,2,3,6], *Timothy P. Morris*[7], *Javier Solana-Sanchez*[1,2,3], *Goretti España-Irla*[1,2,3], *Selma Delgado-Gallén*[1,2,3], *Catherine Pachón-García*[1,2,3], *Sergiu Albu*[1,2,3], *Henrik Zetterberg*[8,9,10,11,12], *Josep M. Tormos*[1,2,3], *Alvaro Pascual-Leone*[1,13,14*†] *and David Bartres-Faz*[1,4,5*†]

[1] Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació adscrit a la Universitat Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain, [2] Departament de Medicina, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, [3] Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain, [4] Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain, [5] Departament de Medicina, Facultat de Medicina i Ciències de la Salut, i Institut de Neurociències, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, [6] Departamento de Ciencias del Comportamiento, Escuela de Psicología, Universidad Metropolitana, Caracas, Venezuela, [7] Center for Cognitive and Brain Health, Department of Psychology, Northeastern University, Boston, MA, United States, [8] Department of Psychiatry and Neurochemistry, Institute of Neuroscience and Physiology, the Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Mölndal, Sweden, [9] Clinical Neurochemistry Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden, [10] Department of Neurodegenerative Disease, University College London Institute of Neurology, London, United Kingdom, [11] UK Dementia Research Institute, University College London, London, United Kingdom, [12] Hong Kong Center for Neurodegenerative Diseases, Hong Kong, China, [13] Hinda and Arthur Marcus Institute for Aging Research and Deanna and Sidney Wolk Center for Memory Health, Hebrew SeniorLife, Boston, MA, United States, [14] Department of Neurology, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

Introduction: The prefrontal cortex (PFC) plays a crucial role in cognition, particularly in executive functions. Cortical reactivity measured with Transcranial Magnetic Stimulation combined with Electroencephalography (TMS-EEG) is altered in pathological conditions, and it may also be a marker of cognitive status in middle-aged adults. In this study, we investigated the associations between cognitive measures and TMS evoked EEG reactivity and explored whether the effects of this relationship were related to neurofilament light chain levels (NfL), a marker of neuroaxonal damage.

Methods: Fifty two healthy middle-aged adults (41–65 years) from the Barcelona Brain Health Initiative cohort underwent TMS-EEG, a comprehensive neuropsychological assessment, and a blood test for NfL levels. Global and Local Mean-Field Power (GMFP/LMFP), two measures of cortical reactivity, were quantified after left prefrontal cortex (L-PFC) stimulation, and cognition was set as the outcome of the regression analysis. The left inferior parietal lobe (L-IPL) was used as a control stimulation condition.

Results: Local reactivity was significantly associated with working memory and reasoning only after L-PFC stimulation. No associations were found between NfL and cognition. These specific associations were independent of the status of neuroaxonal damage indexed by the NfL biomarker and remained after adjusting for age, biological sex, and education.

OPEN ACCESS

Edited by:
Valerio Santangelo,
University of Perugia, Italy

Reviewed by:
Sanjeev Kumar,
University of Toronto, Canada
Robert Blumenfeld,
California State Polytechnic University, Pomona, United States
Aron T. Hill,
Deakin University, Australia

***Correspondence:**
David Bartres-Faz
dbartres@ub.edu
Alvaro Pascual-Leone
apleone@hsl.harvard.edu

[†] These authors have contributed equally to this work

Specialty section:
This article was submitted to Cognition, a section of the journal Frontiers in Psychology

Received: *11 November 2021*
Accepted: *18 January 2022*
Published: *10 February 2022*

Citation:
Redondo-Camós M, Cattaneo G, Perellón-Alfonso R, Alviarez-Schulze V, Morris TP, Solana-Sanchez J, España-Irla G, Delgado-Gallén S, Pachón-García C, Albu S, Zetterberg H, Tormos JM, Pascual-Leone A and Bartres-Faz D (2022) Local Prefrontal Cortex TMS-Induced Reactivity Is Related to Working Memory and Reasoning in Middle-Aged Adults. Front. Psychol. 13:813444. doi: 10.3389/fpsyg.2022.813444

Conclusion: Our results demonstrate that TMS evoked EEG reactivity at the L-PFC, but not the L-IPL, is related to the cognitive status of middle-aged individuals and independent of NfL levels, and may become a valuable biomarker of frontal lobe-associated cognitive function.

Keywords: transcranial magnetic stimulation (TMS), Electroencephalography, TMS-EEG, cortical reactivity, prefrontal cortex (PFC), cognition

INTRODUCTION

Cognitive functioning refers to a set of multiple mental abilities that involve the overall dynamics of information processing of stimuli (acquisition, coding, storage, retrieval, thinking, and decision making) to generate an adequate response (motor or verbal) to the environment (Lezak et al., 2004). The characterization of cognitive performance and cognitive profiles is typically carried out through specific domains referring to different processes and abilities within the global term "cognition" (Harvey, 2019), such as attention, episodic memory, working memory, reasoning, fluid intelligence, language, cognitive flexibility, visuospatial skills, and processing speed.

These cognitive domains have been related to specific anatomic areas and brain networks (Wu et al., 2020), and amongst them, the prefrontal cortex (PFC) plays a central role. The PFC is connected to almost all sensory, motor, neocortical and subcortical structures and is often implicated in "top-down" modulation of cognitive functions (Miller, 2000). In a hierarchical model of the neurophysiology of the cortex, the PFC constitutes the highest area of cortical representations (as opposed to lower cortical structures such as sensory and motor areas) dedicated to the integration and execution of higher-order executive functions (Fuster, 2001; Breukelaar et al., 2018). As these functions are significantly affected during aging, the role of the PFC has been extensively studied, and it has been shown that greater PFC activity is associated with better cognition (Eyler et al., 2011; Fernandez-Ruiz et al., 2018) and that preservation of PFC activity contributes to the maintenance of cognitive abilities (Morcom and Henson, 2018; Vidal-Piñeiro et al., 2019).

Beyond correlational evidence from brain-behavior investigations, direct experimental data using repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) to modulate older adults' PFC function demonstrated that high-frequency rTMS delivered over the bilateral PFC can enhance cognitive functioning (e.g. Solé-Padullés et al., 2006; Cui et al., 2020). If interpreted in the framework of theoretical models of cognitive aging, this enhancement may be due to the promotion of compensatory mechanisms by rTMS (Cabeza et al., 2018).

Given the role of the PFC in cognition and its relevance in healthy aging, the characterization of its neurophysiological activity in middle-aged adults, often understudied as compared with other age brackets (Willis et al., 2010; Lachman, 2015), could represent a valuable biomarker predictive of cognitive decline in older adults (McGinnis et al., 2011). Furthermore, research in middle-aged populations is relevant because changes in brain function can occur decades prior to the onset of clinically measurable symptoms (Beason-Held et al., 2013).

Transcranial Magnetic Stimulation combined with Electroencephalography (TMS-EEG) is a non-invasive approach that allows the study of cortical reactivity via the perturbation of a cortical site and registration of the activity spread throughout the brain (Ilmoniemi and Kičić, 2010; Hallett et al., 2017). The spatiotemporal analysis of this reactivity and propagation allowed previous studies to explore functional network integrity in healthy and clinical populations (Pascual-Leone et al., 2011; Tremblay et al., 2019; Ozdemir et al., 2020).

Cortical reactivity has been defined as the relationship between the strength of the stimulus and the subsequent response (Komssi and Kähkönen, 2006). It is relevant because optimal excitatory and inhibitory cortical balance is needed for the correct functioning of the brain, connectivity between cortical regions, and cognitive functioning (Dehghani et al., 2016). Local and Global Mean-Field Power (GMFP/LMFP) reflect TMS-evoked brain reactivity on a specific subgroup of electrodes or throughout the entire brain, respectively (Lehmann and Skrandies, 1980; Komssi and Kähkönen, 2006; Romero Lauro et al., 2014). Both measures can reflect the electrical field distribution on the scalp (Skrandies, 1990). They could be valuable for measuring local reactivity directly on the stimulated region and reflecting its distribution to other brain areas (Lehmann and Skrandies, 1980). The neurophysiological effect of non-invasive protocols (repetitive TMS or Transcranial Direct Current Stimulation) has been studied through these measures in healthy adults (Casarotto et al., 2010; Romero Lauro et al., 2014; Pisoni et al., 2018; Ozdemir et al., 2021) and earlier research showed how these measures were directly related to pathological conditions, like depression (Voineskos et al., 2019). However, the relation between GMFP/LMFP and cognition in a healthy middle-aged population has not been studied before.

The goal of this study was to explore the relationship between cognition and local and global cortical reactivity after PFC stimulation using TMS-EEG in healthy middle-aged adults. Moreover, we investigated whether the effects are independent of a general measure of neuroaxonal damage and neurodegeneration as derived from plasma neurofilament light chain (NfL; Gisslén et al., 2016), a biomarker that has been associated with cognitive decline amongst elderly adults in the preclinical phase of Alzheimer's disease (AD) (Hu et al., 2019) and potentially in healthy middle-aged adults (Beydoun et al., 2021).

MATERIALS AND METHODS

Subjects and Study Design

Fifty two middle-aged adults (36 male) between 41 and 65 years ($M = 54$, $SD = 6.85$) were recruited as part of the Barcelona Brain Health Initiative (Cattaneo et al., 2018). They underwent a TMS-EEG session, neuropsychological testing, a medical assessment with blood sample collection, and structural Magnetic Resonance Imaging (MRI). Participants were excluded during the medical visit if they had any neurological or neuropsychiatric disorders or used medications that could affect brain excitability or cognitive functions. Further exclusion criteria included contraindications for TMS (Rossini et al., 2015; Rossi et al., 2021) or MRI. All participants gave written informed consent, and the local ethics committee (Comité d'Ètica i Investigació Clínica de la Unió Catalana d'Hospitals) approved the study protocol, which conformed to the Declaration of Helsinki for research involving human subjects.

Neuropsychological Assessment

The neuropsychological assessment consisted of paper and pencil tests administered by two licensed neuropsychologists (VA, CP). The testing session lasted ∼90 min and included 14 validated gold-standard instruments (see Cattaneo et al., 2018): Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) (Schmidt, 1996), Digit-Span Forward and Backward, Corsi block tapping test, Letter-Number Sequencing test (Peña-Casanova et al., 2012), Trail Making Test A and B (TMT) (Reitan and Wolfson, 1985; Peña-Casanova et al., 2012), Matrix Reasoning and Block design, the Digit symbol task, and the Cancellation test (Wechsler, 2012).

Raw scores of each test were transformed into z-scores and, similar to our previous reports (Vidal-Piñeiro et al., 2014; España-Irla et al., 2021), were grouped into five cognitive domains: episodic memory (RAVLT immediate recall, delayed recall, and recognition; Digit-span forward; Corsi block tapping), working memory (Digit-span backward; Letter-number sequencing), reasoning (Matrix and Block design WAIS-IV), flexibility (TMT B and B-A), and processing speed (TMT A; Digit symbol test; Cancellation test).

TMS Protocol

Participants were asked to sit in a comfortable armchair, look at a fixation cross placed at a 1.5 m distance, stay still, and keep their eyes open. The coil was placed tangentially over the scalp roughly at a 45-degree angle (relative to the mid-sagittal plane), resulting in a posterior-to-anterior current flow. A frameless stereotactic neuronavigation system (Brainsight, Rogue Research Inc., Montreal, QC Canada) was used with the subject's T1 weighted structural MRI (obtained from a 3T Siemens Magnetom Prisma) to ensure accurate targeting of the stimulation sites throughout the session.

Participant's Resting Motor Threshold (RMT) was assessed at the motor hotspot (M1) of the dominant hemisphere following the recommendations from the International Federation for Clinical Neurophysiology (Rossini et al., 2015; Rossi et al., 2021). Briefly, RMT was defined as the lowest stimulation intensity required to produce motor-evoked potentials (MEPs) of $\geq 50\ \mu V$ in the relaxed first dorsal interosseous muscle (FDI) in five out of 10 trials. MEPs were measured using surface electromyography (EMG) with electrodes placed in a belly-tendon montage and the ground electrode on the ulnar styloid process and connected to a Biopac EMG100C amplifier (BIOPAC Systems Inc., California, USA). Handedness was assessed by the Edinburgh handedness questionnaire (Oldfield, 1971; Veale, 2014).

TMS was applied using a Medtronic Magpro X100 stimulator through a Cool-B65 figure-of-eight coil. One hundred and twenty biphasic single pulses were applied at 120% of RMT at random intervals between 3 and 6 s. Also, stimulation was applied over two target locations: the left prefrontal cortex (L-PFC) and a control target, the Inferior Parietal Lobule (L-IPL). The cohort had two different target procedures, based on the anatomy of each subject or using a cortical functional parcellation (Yeo et al., 2011) (See **Supplementary Material** for details on targeting procedure).

Due to time constraints during the experimental sessions, 77% of the individuals completed L-PFC stimulation (a total of 40 participants) and 67% L-IPL (35 participants), with 44% of them completing both conditions (23 participants). The complete TMS procedure lasted 2 h.

EEG Recordings

The EEG equipment used to record EEG responses to TMS was made up of a TMS-compatible EEG amplifier (ActiChamp system, Brain Products, GmbH, Munich, Germany) attached to 64 active electrodes (ActiCAP slim, Brain Products, GmbH, Munich, Germany), following the 10–20 international system for electrode montage. The ground was placed at the Fpz electrode site, and the signal was referenced to the AFz electrode. Electrode impedances were kept below 5 $k\Omega$ during the recording, and a continuous signal was collected, filtered DC to 500 Hz, and digitized at a sampling rate of 1,000 Hz. Besides wearing earplugs to protect from the "click" of the TMS pulse, subjects listened to white noise during stimulation to dampen the auditory evoked potential. The volume of the white noise was individually adjusted to each subjects' tolerance, and it was played through an active noise-canceling inserted earphone (Beoplay E4, Bang&Olufsen, Denmark).

EEG Preprocessing

The EEG signal was first preprocessed offline with custom MATLAB scripts (R2020b, The MathWorks Inc., Natick, Massachusetts) that incorporate function from the EEGLAB toolbox (Delorme and Makeig, 2004) and TESA plugin (Rogasch et al., 2017). The EEG signal was epoched around the TMS pulse (−1,000 to +2,000 ms) and baseline corrected (−900 to −100 ms). Excessively noisy channels were removed, but no more than three channels had to be discarded for any subject. Data was zero-padded between −2 and +14 ms around the TMS pulse to remove the early TMS pulse artifact. Epochs were inspected visually, and excessively noisy epochs were removed ($M = 19$, $SD = 7$). A two-step fast Independent Component Analysis (fICA) was conducted. The first fICA, was performed with Principal Component Analysis dimension reduced to 40 to minimize overfitting and was used to remove the decay artifact,

typically 2 components were removed for each subject. Before the second round of fICA, the zero-padded TMS pulse was linearly interpolated, Butterworth band-pass (1 and 100 Hz) and notch (48 and 52 Hz) filters were applied, and data were re-referenced to the average reference. The second round of fICA was used to remove any remaining artifacts, including eye blinks, lateral eye movement, muscle, TMS-evoked muscle, electrode noise, and auditory evoked potentials ($M = 28$, $SD = 3$; a range of 21–31 out of 38). Finally, initially discarded channels were spline interpolated.

Cortical Reactivity TMS-EEG Measures

Global Mean-Field Power (GMFP) and Local Mean-Field Power (LMFP) were used to quantify overall and local brain reactivity measures, respectively.

Mean Field-Power (MFP) was calculated for both measures using the following formula:

$$MFP\ (t) = \sqrt{\frac{[\sum_{i}^{k}(V_i\,(t) - V_{mean}\,(t))^2]}{K}}$$

where "t" is time, "V" is the voltage in the channel "I," "K" is the number of channels, and "Vmean" the mean of the voltage across electrodes (Lehmann and Skrandies, 1980; Esser et al., 2006).

All EEG electrodes were used to compute GMFP, whereas, for LMFP, a subset of electrodes was chosen for L-PFC (FC1, FC3, FC5, F1, F3, F5) and L-IPL (CP1, CP3, CP5, P1, P3, P5) (Ozdemir et al., 2020). LMFP was used to calculate the local reactivity of the stimulation target region.

For GMFP and LMFP, the area under the curve was calculated using trapezoidal integration within two-time windows, before and after the pulse (Baseline and Post-stimulation). Baseline refers to the activity before each pulse (−500 to −3 ms), while Post-stimulation activity includes data between 15 and 400 ms after the TMS pulse. This time window has been selected to minimize the TMS artifact's impact and capture the entirety of the TMS evoked brain response (Fuggetta et al., 2005; Van Der Werf et al., 2006). This time window has been used in recent and similar research (Ozdemir et al., 2020; Rocchi et al., 2020; Vallesi et al., 2021). Furthermore, baseline data was used to normalize the activity post-stimulation, subtracting it from the activity post-TMS.

NfL Measurement

We collected blood samples using EDTA tubes during the medical assessment, and plasma was aliquoted and stored in a refrigerator at −80°C in a biobank facility following standard procedures usually employed for clinical purposes. Plasma NfL concentration was measured using the Single-molecule array (Simoa) NF-light Advantage Kit on an HD-X instrument as described by the kit manufacturer (Quanterix, Billerica, MA). The limit of quantification was 2.7 pg/mL, and the limit of detection was 0.3 pg/mL. For the quality control (QC) sample with an 11.2 pg/mL concentration, repeatability was 3.6%, and intermediate precision was 5.0%. For a QC sample with a 115 pg/mL concentration, repeatability was 5.3%, and intermediate precision was 6.8%. The measurements were performed at the Clinical Neurochemistry Laboratory at the University of Gothenburg by board-certified laboratory technicians who were blinded to clinical data.

TABLE 1 | Demographic Variables, RMT and NfL plasma values ($n = 52$).

	Min	Max	Mean	SD
Age	41	65	53.96	6.85
Years of Education	8	28	18.40	3.83
RMT	43	82	59.77	8.76
NfL levels (pg/mL)	4.09	29.8	12.22	5.35

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed in SPSS version 22.0 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA).

First, to explore changes between local and global reactivity before and after stimulation, we ran a repeated-measures ANOVA using the variable "Time" (Baseline and Post-stimulation) and "Mean-Field Type" (LMFP and GMFP) as within-subject factors.

Then, to investigate the relation between TMS reactivity, at local and global levels, and cognition, we ran multivariate multiple regressions for each stimulation site (PFC, IPL). L-IPL was used as a control condition to validate if our associations with cognition in L-PFC results were specific to this target. Models were run using cognitive composite scores as dependent variables (episodic memory, working memory, reasoning, flexibility, and processing speed) and Mean-Field Type, targeting method, NfL levels, age, biological sex, and years of education as predictors. Also, we run the same models without using covariates (targeting method, NfL levels, age, biological sex, and years of education).

Finally, to specifically explore the associations between NfL level and cognition, we first performed a bivariate correlation, and then to see the effect of age, we ran a partial correlation controlled by this variable.

RESULTS

All subjects were right-handed and tolerated well the experimental procedures, and no adverse events were reported. Descriptive statistics of age, educational level, RMT, and plasma NfL levels are presented in **Table 1**, while cognitive scores are in the **Supplementary Material** (**Supplementary Table 1**).

TMS Cortical Reactivity Changes

L-PFC

Repeated measures ANOVA showed a main effect of Time [$F_{(1,39)} = 54.05$, $p < 0.001$], indicating difference between pre and post stimulation, and a main effect of the Mean-Field Type [$F_{(1,39)} = 69.02$, $p < 0.001$], indicating that local reactivity was greater ($M = 262.32$; $SD = 13.90$) than global cortical reactivity ($M = 206.91$; $SD = 9.54$). The significant interaction between Time and Mean-Field Type [$F_{(1,39)} = 145.97$, $p < 0.001$] indicated a difference in the effects of stimulation between "local" and "global" conditions. While LMFP showed significant differences between baseline and

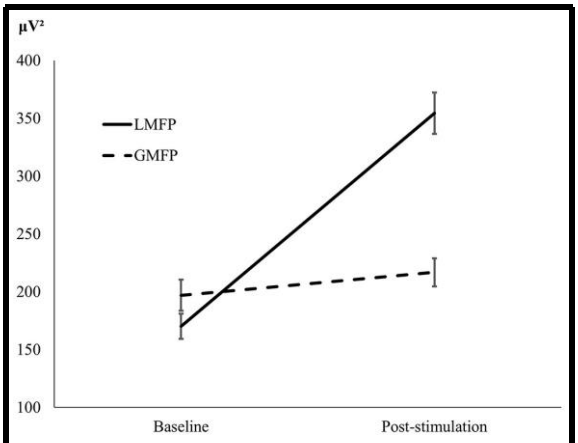

FIGURE 1 | L-PFC. Graphical representation of local (LMFP) and global (GMFP) reactivity, at baseline and after stimulation.

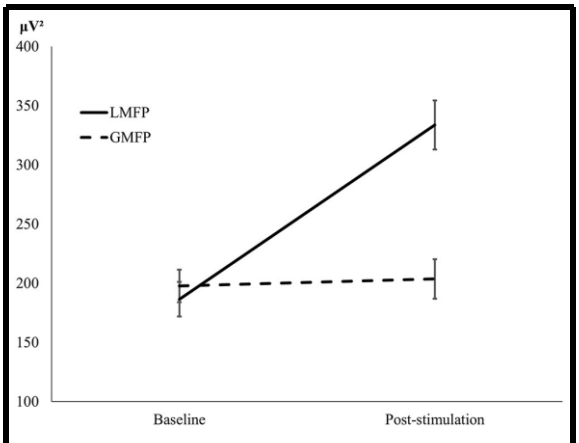

FIGURE 2 | L-IPL. Graphical representation of LFMP and GFMP at baseline and after stimulation.

post-TMS [$t_{(39)} = 13.56, p < 0.001, d = 2.14$] GMFP did not [$t_{(39)} = 1.16, p = 0.253, d = 0.18$; see **Figure 1**].

L-IPL

Repeated measures ANOVA also showed a main effect of Time [$F_{(1,34)} = 20.01$, $p < 0.001$], indicating difference between pre and post stimulation, and a main effect of the Mean-Field Type [$F_{(1,34)} = 89.38$, $p < 0.001$] showing that local reactivity was greater ($M = 260.10$; $SD = 15.78$) than global cortical reactivity ($M = 200.63$; $SD = 12.02$). The significant interaction between Time and Mean-Field Type [$F_{(1,34)} = 143.96, p < 0.001$] suggested difference in the effects of stimulation between "local" and "global" conditions. Similarly to the L-PFC analysis, while LMFP showed significative differences between baseline and post-TMS [$t_{(34)} = 8.55, p < 0.001, d = 1.44$] GMFP did not [$t_{(34)} = 0.311, p = 0.758, d = 0.05$; see **Figure 2**]. Also, an example of TMS-EEG responses after a PFC and IPL pulse is presented in **Figure 3**.

Cortical Reactivity and Cognitive Functions Associations

L-PFC

Age and local reactivity resulted in statistically significant results for the multivariate regression analysis [respectively $F_{(5,28)} = 3.28$, $p < 0.019$, Wilks' $\Lambda = 0.631$, partial $\eta 2 = 0.369$; $F_{(5,28)} = 2.91$, $p = 0.031$, Wilks' $\Lambda = 0.658$, partial $\eta 2 = 0.342$; see **Supplementary Table 2**]. The analysis revealed a significant positive association between working memory and local reactivity to stimulation of the L-PFC [$F_{(1,32)} = 5.01$, $p = 0.032$, partial $\eta 2 = 0.135$], as well as an association between reasoning and both age [$F_{(1,32)} = 6.76$, $p = 0.014$, partial $\eta 2 = 0.174$] and local reactivity to L-PFC stimulation [$F_{(1,32)} = 4.70$, $p = 0.038$, partial $\eta 2 = 0.128$] (see **Figure 4**). Episodic memory, processing speed, and flexibility were unrelated to the independent variables introduced in the model. Full model results including covariates can be found in **Supplementary Table 3**.

Conversely, no significant results were seen between cognition and cortical reactivity in models without covariates (see **Supplementary Tables 4, 5**).

L-IPL

For stimulation to left IPL, no statistically significant relations were found between any of the cognitive functions and either global or local TMS-EEG induced reactivity measures at baseline or post-stimulation. Model results including covariates are presented in **Supplementary Tables 6, 7**. Also, no significant results were seen between cognition and cortical reactivity in models without covariates (see **Supplementary Tables 8, 9**).

NfL Levels and Cognitive Functions

We first ran a bivariate correlation between NfL levels and cognitive variables and found that it was significantly and inversely correlated to participants' cognitive performance in reasoning ($r = -0.373$, $p = 0.006$), processing speed ($r = -0.338$, $p = 0.014$), and cognitive flexibility ($r = -0.293$, $p = 0.035$; see **Supplementary Table 10**). However, when controlled for age, such associations disappeared, indicating that the age of participants largely drove the correlations. In addition, and as revealed by the multivariate regression analyses, NfL concentration was not significantly associated with cognitive status (see **Supplementary Tables 3, 7**).

DISCUSSION

In the present study, we explored the relationship between EEG reactivity to TMS of the PFC and IPL and cognition in healthy middle-aged adults, and the possible role of neuroaxonal damage measured by plasma NfL. Results indicate that local TMS-EEG reactivity after PFC stimulation is positively associated with executive functions, specifically

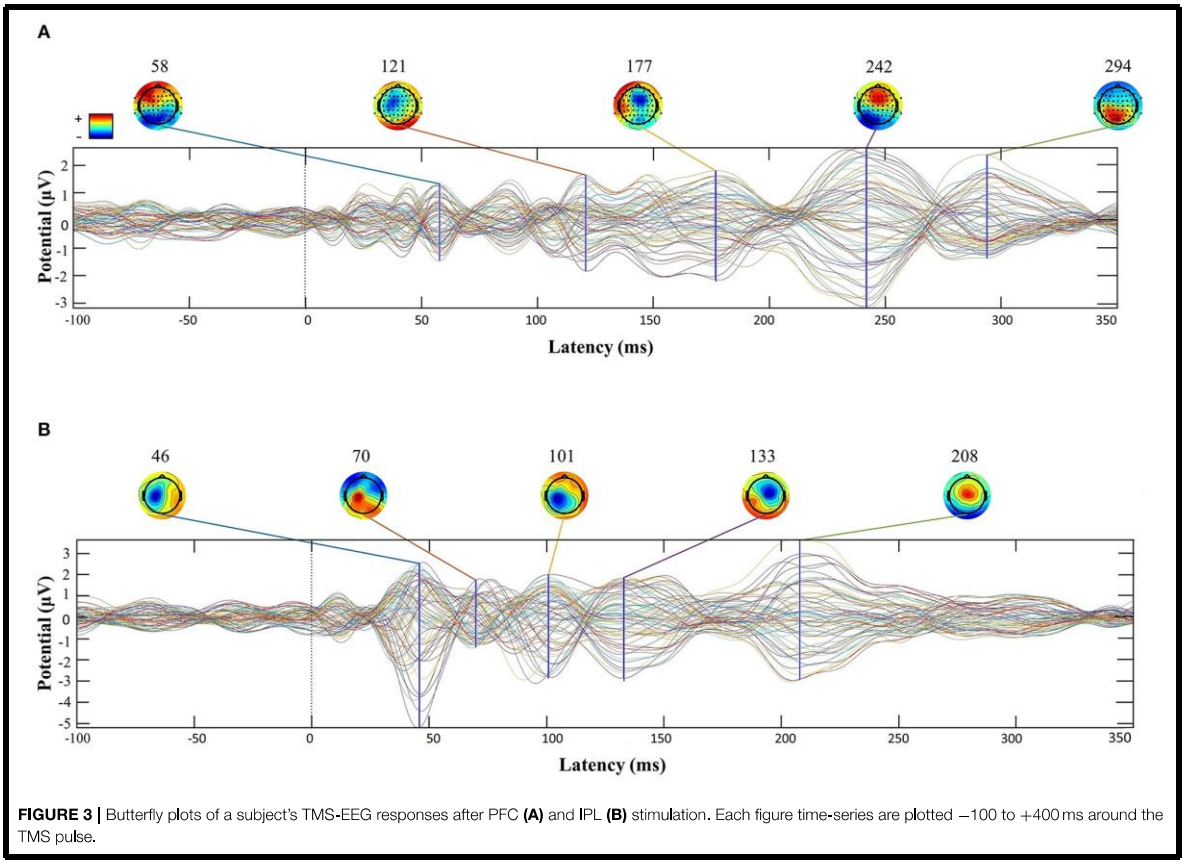

FIGURE 3 | Butterfly plots of a subject's TMS-EEG responses after PFC **(A)** and IPL **(B)** stimulation. Each figure time-series are plotted −100 to +400 ms around the TMS pulse.

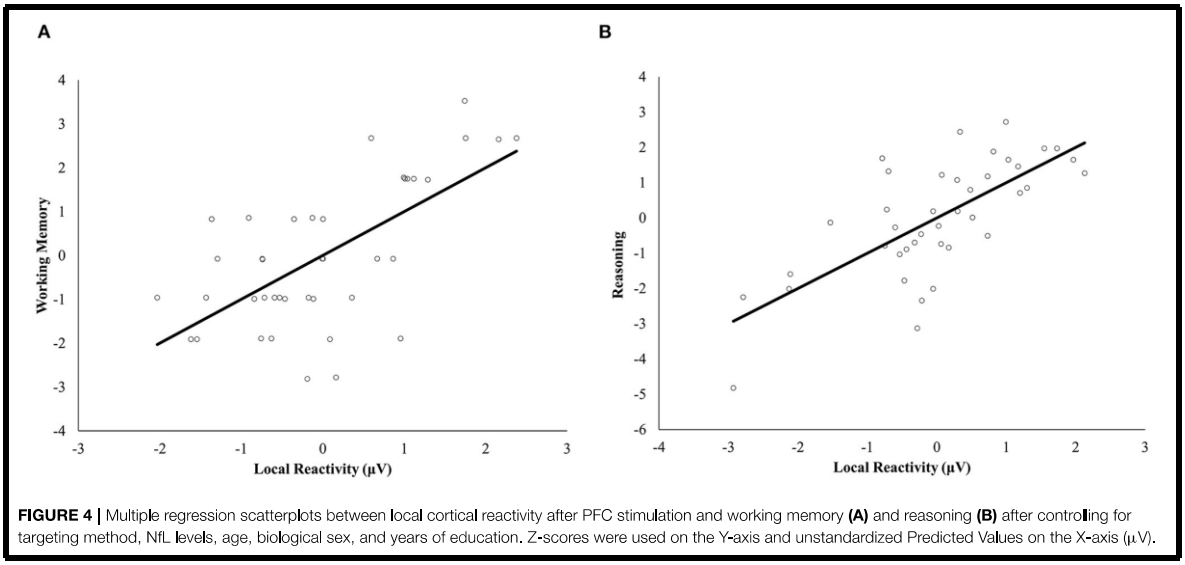

FIGURE 4 | Multiple regression scatterplots between local cortical reactivity after PFC stimulation and working memory **(A)** and reasoning **(B)** after controlling for targeting method, NfL levels, age, biological sex, and years of education. Z-scores were used on the Y-axis and unstandardized Predicted Values on the X-axis (μV).

working memory and reasoning. However, after IPL stimulation, cortical reactivity was not related to cognitive function. Finally, it was shown that neuroaxonal damage measured by NfL did not play a role in these associations. Despite that, a significant effect was seen when we correlated directly NfL level and cognitive functions, which disappeared when we controlled by age.

The fact that the relation between TMS-EEG reactivity and cognitive were limited to the local response following PFC stimulation, and not globally or when stimulating the L-IPL, is consistent with the specific PFC role in the top-down regulation of higher-order cognitive control (Miller, 2000). These results indicate that individual differences in local cortical reactivity to TMS of the PFC could be a practical, specific, sensitive, and simple biomarker to assess cognitive functioning, independently of the global brain and axonal degeneration.

Cortical reactivity has been previously related to factors such as alcohol or medication intake (Kähkönen et al., 2003; Khedr et al., 2020) and various TMS parameters (Casula et al., 2018). A rich literature has demonstrated that activity and connectivity between PFC and IPL are associated with cognition (Lückmann et al., 2014; Friedman and Robbins, 2021). In particular, whereas PFC has been more related to executive function and cognitive control (Friedman and Robbins, 2021), IPL has been associated with language and social cognition (Numssen et al., 2021). In line with our results, Ngetich et al. (2020) showed that after a continuous theta burst stimulation over L-PFC, there was a change in executive functions like working memory and decision making (Ngetich et al., 2020). Similarly, it has been shown that abnormal higher cortical excitability in the PFC in patients with AD than healthy controls was inversely associated with global cognition/executive functions (Joseph et al., 2021), confirming the relation between cognitive functions performance and PFC evoked activity.

The role of PFC in working memory has been extensively studied in the past decade with animals and humans, suggesting that PFC is strongly related to the cognitive process of maintaining available and select information for delayed responses (see Curtis and D'Esposito, 2003 for a review). It has been proposed that while the PFC is crucial to manipulate and select relevant information, a more posterior part of PFC (e.g., Brodmann area 8) is involved in mechanisms of maintenance (Rowe et al., 2000; Glahn et al., 2002). Also, complex reasoning tasks have been consistently associated with PFC activity and integrity. It has been proposed that PFC is strongly involved in logic processing (Santarnecchi et al., 2013), and specifically, its rostrolateral part is essential for relational integration and associations (Christoff et al., 2001; Krawczyk et al., 2011).

The association between cognition and PFC activity and connectivity is especially important in studying the maintenance of cognitive functioning in aging. Indeed it has been proposed that PFC activity could be related to the recruitment of compensatory mechanisms (Solé-Padullés et al., 2006; Höller-Wallscheid et al., 2017; Abellaneda-Pérez et al., 2019) that allow individuals to maintain cognition in the face of age-related brain changes.

Furthermore, NfL was shown to be negatively related to cognition, but this effect disappeared if controlled by the individual's age, and NfL level didn't have a significant influence on the identified relation between cortical reactivity and cognitive functions. NfL level is a marker of neuro-axonal damage in diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, multiple sclerosis, or amyotrophic lateral sclerosis, where high concentrations of NfL have been reported (Gaetani et al., 2019; Dhiman et al., 2020). Recent studies (Khalil et al., 2020; Beydoun et al., 2021; Rübsamen et al., 2021) have explored in healthy individuals the relation between NfL levels, brain structures, and cognitive scores, suggesting that higher NfL levels could be associated with brain atrophy, and in consequence worse cognition. Our study sample was limited to middle-aged, cognitively-unimpaired adults, and the fact that the level of NfL didn't influence the reactivity/cognition prediction could be because of collinearity between age and NfL level, or that most past results have focused on older adults or various patient populations. More studies in healthy middle-aged adults are needed to determine the significance and potential clinical utility of NfL plasma levels (Beydoun et al., 2021).

To conclude, our results indicate that cortical reactivity of L-PFC as characterized by TMS-EEG is related to cognition in middle-aged adults regardless of neuroaxonal damage (indicated by NfL), age, biological sex, and education. This TMS-EEG metric may represent a valuable and independent biomarker for cognition.

As with all studies, the design of the current study is subject to limitations. First, we acknowledge that our sample size was small, but still, it was in line with other studies whose objective was to associate TMS measures with cognition. Second, our sample was characterized by highly educated individuals, and there was a high prevalence of men. Furthermore, our statistical analysis was done for each stimulation site separately because of missing data. Given the small sample sizes, multiple comparisons corrections were not applied to maintain statistical power and avoid strongly increasing the probability of type II errors. Hence, further studies are needed, including more participants with both PFC and IPL stimulation data to confirm these results. Finally, a layer of foam between the coil and the electrodes was not used in this research, and despite this preventive measure could add some distance, increasing the resting motor threshold and the effect varies between subjects (ter Braack et al., 2015), it could have been beneficial for the reduction of auditory evoked potentials in the EEG analysis. Future investigations with larger and more heterogeneous samples are necessary to validate the conclusions of our study, and it would be valuable to explore if changes in cortical reactivity, measured longitudinally, may be predictive of age-related changes in cognition.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Comité d'Ètica i Investigació Clínica de la Unió Catalana d'Hospitals. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AP-L, DB-F, and JT-M participated in the initial conception of the design of the BBHI project. MR-C, DB-F, AP-L, GC, and RP-A contributed to conception and design of the present study. MR-C, SD-G, GE-I, VA-S, CP-G, SA, JS-S, and TM contributed to the acquisition of data. MR-C, GC, TM, HZ, and RP-A analyzed the data. MR-C, GC, and DB-F contributed to the draft of the manuscript. All authors contributed to manuscript revision, read, and approved the submitted version.

FUNDING

DB-F and RP-A were funded by a Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (MICIU/FEDER; RTI2018-095181-B-C21) and an ICREA Academia 2019 Research Grants, and also supported by an ICREA Academia 2019 Grand Award, RP-A was supported by a fellowship from la Caixa Foundation (ID 100010434, Fellowship code: LCF/BQ/DI19/11730050), JT-M was partly supported Fundació Joan Ribas (Araquistain_FJRA), AGAUR, Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca. Convocatòria 2018 d'Indústria del Coneixement (modalitat PRODUCTE) and FEDER, Fons Europeu de Desenvolupament Regional (2018 PROD 00172), Fundació La Marató De TV3 (201735.10), and European Commission - H2020/Call H2020-SC1-2016-2017 (RIA) (Grant Agreement No. 777107), AP-L was partly supported by the National Institutes of Health (R24AG06142, and P01 AG031720), the National Science Foundation, DARPA, and the Barcelona Brain Health Initiative funded primarily by La Caixa (LCF/PR/PR16/11110004), and HZ is a Wallenberg Scholar supported by grants from the Swedish Research Council (#2018-02532), the European Research Council (#681712), Swedish State Support for Clinical Research (#ALFGBG-720931), the Alzheimer Drug Discovery Foundation (ADDF), USA (#201809-2016862), the AD Strategic Fund and the Alzheimer's Association (#ADSF-21-831376-C, #ADSF-21-831381-C and #ADSF-21-831377-C), the Olav Thon Foundation, the Erling-Persson Family Foundation, Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor, Hjärnfonden, Sweden (#FO2019-0228), the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 860197 (MIRIADE), and the UK Dementia Research Institute at UCL.

ACKNOWLEDGMENTS

A special thanks is extended to all BBHI participants, the project team and research assistants, and other partners (Ad-Salutem Institute, Sodexo, I.C.A. Informàtica y Comunicaciones Avanzadas, Neuroelectrics, Corporació Catalana de Mitjans Audiovisuals, Club Metropolitan, Casa Ametller, and Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya-AQuAS) for their collaboration.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2022.813444/full#supplementary-material

REFERENCES

Abellaneda-Pérez, K., Vaqué-Alcázar, L., Solé-Padullés, C., and Bartrés-Faz, D. (2019). Combining non-invasive brain stimulation with functional magnetic resonance imaging to investigate the neural substrates of cognitive aging. *J. Neurosci. Res.* doi: 10.1002/jnr.24514. [Epub ahead of print].

Beason-Held, L. L., Goh, J. O., An, Y., Kraut, M. A., O'Brien, R. J., Ferrucci, L., et al. (2013). Changes in brain function occur years before the onset of cognitive impairment. *J. Neurosci.* 33, 18008–18014. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1402-13.2013

Beydoun, M. A., Noren Hooten, N., Beydoun, H. A., Maldonado, A. I., Weiss, J., Evans, M. K., et al. (2021). Plasma neurofilament light as a potential biomarker for cognitive decline in a longitudinal study of middle-aged urban adults. *Transl. Psychiatry* 11, 1–12. doi: 10.1038/s41398-021-01563-9

Breukelaar, I. A., Williams, L. M., Antees, C., Grieve, S. M., Foster, S. L., Gomes, L., et al. (2018). Cognitive ability is associated with changes in the functional organization of the cognitive control brain network. *Hum. Brain Mapp.* 39, 5028–5038. doi: 10.1002/hbm.24342

Cabeza, R., Albert, M., Belleville, S., Craik, F. I. M., Duarte, A., Grady, C. L., et al. (2018). Maintenance, reserve and compensation: the cognitive neuroscience of healthy ageing. *Nat. Rev. Neurosci.* 19, 701–710. doi: 10.1038/s41583-018-0068-2

Casarotto, S., Lauro, L. J. R., Bellina, V., Casali, A. G., Rosanova, M., Pigorini, A., et al. (2010). EEG responses to TMS are sensitive to changes in the perturbation parameters and repeatable over time. *PLoS One* 5, e10281. doi: 10.1371/journal.pone.0010281

Casula, E. P., Rocchi, L., Hannah, R., and Rothwell, J. C. (2018). Effects of pulse width, waveform and current direction in the cortex: A combined cTMS-EEG study. *Brain Stimul.* 11, 1063–1070. doi: 10.1016/j.brs.2018.04.015

Cattaneo, G., Bartrés-Faz, D., Morris, T. P., Sánchez, J. S., Macià, D., Tarrero, C., et al. (2018). The Barcelona brain health initiative: a cohort study to define and promote determinants of brain health. *Front. Aging Neurosci.* 10, 32'. doi: 10.3389/fnagi.2018.00321

Christoff, K., Prabhakaran, V., Dorfman, J., Zhao, Z., Kroger, J. K., Holyoak, K. J., et al. (2001). Rostrolateral prefrontal cortex involvement in relational integration during reasoning. *Neuroimage* 14, 1136–1149. doi: 10.1006/nimg.2001.0922

Cui, X., Ren, W., Zheng, Z., and Li, J. (2020). Repetitive transcranial magnetic stimulation improved source memory and modulated recollection-based retrieval in healthy older adults. *Front. Psychol.* 11, 1137. doi: 10.3389/fpsyg.2020.01137

Curtis, C. E., and D'Esposito, M. (2003). Persistent activity in the prefrontal cortex during working memory. *Trends Cogn. Sci.* 7, 415–423. doi: 10.1016/S1364-6613(03)00197-9

Dehghani, N., Peyrache, A., Telenczuk, B., Le Van Quyen, M., Halgren, E., Cash, S. S., et al. (2016). Dynamic balance of excitation and inhibition in human and monkey neocortex. *Sci. Rep.* 6, 23176. doi: 10.1038/srep23176

Delorme, A., and Makeig, S. (2004). EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics. *J. Neurosci. Methods* 134, 9–21. doi: 10.1016/j.jneumeth.2003.10.009

Dhiman, K., Gupta, V. B., Villemagne, V. L., Eratne, D., Graham, P. L., Fowler, C., et al. (2020). Cerebrospinal fluid neurofilament light concentration predicts brain atrophy and cognition in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 12, e12005. doi: 10.1002/dad2.12005

España-Irla, G., Gomes-Osman, J., Cattaneo, G., Albu, S., Cabello-Toscano, M., Solana-Sanchéz, J., et al. (2021). Associations between cardiorespiratory fitness, cardiovascular risk, and cognition are mediated by structural brain health in midlife. *J. Am. Heart Assoc.* 10, e020688. doi: 10.1161/JAHA.120.020688

Esser, S. K., Huber, R., Massimini, M., Peterson, M. J., Ferrarelli, F., and Tononi, G. (2006). A direct demonstration of cortical LTP in humans: A combined TMS/EEG study. *Brain Res. Bull.* 69, 86–94. doi: 10.1016/j.brainresbull.2005.11.003

Eyler, L. T., Sherzai, A., Kaup, A. R., and Jeste, D. V. (2011). A review of functional brain imaging correlates of successful cognitive aging. *Biol. Psychiatry* 70, 115–122. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.12.032

Fernandez-Ruiz, J., Peltsch, A., Alahyane, N., Brien, D. C., Coe, B. C., Garcia, A., et al. (2018). Age related prefrontal compensatory mechanisms for inhibitory control in the antisaccade task. *Neuroimage* 165, 92–101. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.10.001

Friedman, N. P., and Robbins, T. W. (2021). The role of prefrontal cortex in cognitive control and executive function. *Neuropsychopharmacology*, 47, 72–89. doi: 10.1038/s41386-021-01132-0

Fuggetta, G., Fiaschi, A., and Manganotti, P. (2005). Modulation of cortical oscillatory activities induced by varying single-pulse transcranial magnetic stimulation intensity over the left primary motor area: a combined EEG and TMS study. *Neuroimage* 27, 896–908. doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.05.013

Fuster, J. M. (2001). The prefrontal cortex - an update: time is of the essence. *Neuron* 30, 319–333. doi: 10.1016/S0896-6273(01)00285-9

Gaetani, L., Blennow, K., Calabresi, P., Di Filippo, M., Parnetti, L., and Zetterberg, H. (2019). Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 870–881. doi: 10.1136/jnnp-2018-320106

Gisslén, M., Price, R. W., Andreasson, U., Norgren, N., Nilsson, S., Hagberg, L., et al. (2016). Plasma concentration of the Neurofilament Light Protein (NFL) is a biomarker of CNS Injury in HIV Infection: a cross-sectional study. *EBioMedicine* 3, 135–140. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.11.036

Glahn, D. C., Kim, J., Cohen, M. S., Poutanen, V. P., Therman, S., Bava, S., et al. (2002). Maintenance and manipulation in spatial working memory: dissociations in the prefrontal cortex. *Neuroimage* 17, 201–213. doi: 10.1006/nimg.2002.1161

Hallett, M., Di Iorio, R., Rossini, P. M., Park, J. E., Chen, R., Celnik, P., et al. (2017). Contribution of transcranial magnetic stimulation to assessment of brain connectivity and networks. *Clin. Neurophysiol.* 128, 2125–2139. doi: 10.1016/j.clinph.2017.08.007

Harvey, P. D. (2019). Domains of cognition and their assessment. *Dialogues Clin. Neurosci.* 21, 227–237. doi: 10.31887/DCNS.2019.21.3/pharvey

Höller-Wallscheid, M. S., Thier, P., Pomper, J. K., and Lindner, A. (2017). Bilateral recruitment of prefrontal cortex in working memory is associated with task demand but not with age. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, E830–E839. doi: 10.1073/pnas.1601983114

Hu, H., Chen, K. L., Ou, Y. N., Cao, X. P., Chen, S. D., Cui, M., et al. (2019). Neurofilament light chain plasma concentration predicts neurodegeneration and clinical progression in nondemented elderly adults. *Aging (Albany. NY).* 11, 6904–6914. doi: 10.18632/aging.102220

Ilmoniemi, R. J., and Kičić, D. (2010). Methodology for combined TMS and EEG. *Brain Topogr.* 22, 233–248. doi: 10.1007/s10548-009-0123-4

Joseph, S., Patterson, R., Wang, W., Blumberger, D. M., Rajji, T., and Kumar, S. (2021). Quantitative assessment of cortical excitability in alzheimer's dementia and its association with clinical symptoms: a systematic review and meta-analyses. *J. Alzheimer's Dis.* doi: 10.3233/JAD-210311. [Epub ahead of print].

Kähkönen, S., Wilenius, J., Nikulin, V. V., Ollikainen, M., and Ilmoniemi, R. J. (2003). Alcohol reduces prefrontal cortical excitability in humans: A combined TMS and EEG study. *Neuropsychopharmacology* 28, 747–754. doi: 10.1038/sj.npp.1300099

Khalil, M., Pirpamer, L., Hofer, E., Voortman, M. M., Barro, C., Leppert, D., et al. (2020). Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. *Nat. Commun.* 11:812. doi: 10.1038/s41467-020-14612-6

Khedr, E. M., Tony, A. A., Abdelwarith, A., and Safwat, M. (2020). Effect of chronic nicotine consumption on motor cortical excitability: a transcranial magnetic stimulation study. *Neurophysiol. Clin.* 50, 33–39. doi: 10.1016/j.neucli.2019.11.003

Komssi, S., and Kähkönen, S. (2006). The novelty value of the combined use of electroencephalography and transcranial magnetic stimulation for neuroscience research. *Brain Res. Rev.* 52, 183–192. doi: 10.1016/j.brainresrev.2006.01.008

Krawczyk, D. C., Michelle McClelland, M., and Donovan, C. M. (2011). A hierarchy for relational reasoning in the prefrontal cortex. *Cortex* 47, 588–597. doi: 10.1016/j.cortex.2010.04.008

Lachman, M. E. (2015). Mind the gap in the middle: a call to study midlife. *Res. Hum. Dev.* 12, 327–334. doi: 10.1080/15427609.2015.1068048

Lehmann, D., and Skrandies, W. (1980). Reference-free identification of components of checkerboard-evoked multichannel potential fields. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 48, 609–621. doi: 10.1016/0013-4694(80)90419-8

Lezak, M., Howieson, D., and Loring, D. (2004). *Neuropsychological Assessment, 4th Edn.* New York, NY: Oxford University Press.

Lückmann, H. C., Jacobs, H. I. L., and Sack, A. T. (2014). The cross-functional role of frontoparietal regions in cognition: internal attention as the overarching mechanism. *Prog. Neurobiol.* 116, 66–86. doi: 10.1016/j.pneurobio.2014.02.002

McGinnis, S. M., Brickhouse, M., Pascual, B., and Dickerson, B. C. (2011). Age-related changes in the thickness of cortical zones in humans. *Brain Topogr.* 24, 279–291. doi: 10.1007/s10548-011-0198-6

Miller, E. K. (2000). The prefontral cortex and cognitive control. *Nat. Rev. Neurosci.* 1, 59–65. doi: 10.1038/35036228

Morcom, A. M., and Henson, R. N. A. (2018). Increased prefrontal activity with aging reflects nonspecific neural responses rather than compensation. *J. Neurosci.* 38, 7303–7313. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1701-17.2018

Ngetich, R., Zhou, J., Zhang, J., Jin, Z., and Li, L. (2020). Assessing the effects of continuous theta burst stimulation over the dorsolateral prefrontal cortex on human cognition: a systematic review. *Front. Integr. Neurosci.* 14, 35. doi: 10.3389/fnint.2020.00035

Numssen, O., Bzdok, D., and Hartwigsen, G. (2021). Functional specialization within the inferior parietal lobes across cognitive domains. *Elife* 10. doi: 10.7554/eLife.63591.sa2

Oldfield, R. C. (1971). The assessment and analysis of handedness. *Neuropsychologia* 9, 97–113. doi: 10.1016/0028-3932(71)90067-4

Ozdemir, R. A., Boucher, P., Fried, P. J., Momi, D., Jannati, A., Pascual-Leone, A., et al. (2021). Reproducibility of cortical response modulation induced by intermittent and continuous theta-burst stimulation of the human motor cortex. *Brain Stimul.* 14, 949–964. doi: 10.1016/j.brs.2021.05.013

Ozdemir, R. A., Tadayon, E., Boucher, P., Momi, D., Karakhanyan, K. A., Fox, M. D., et al. (2020). Individualized perturbation of the human connectome reveals reproducible biomarkers of network dynamics relevant to cognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 8115–8125. doi: 10.1073/pnas.1911240117

Pascual-Leone, A., Freitas, C., Oberman, L., Horvath, J. C., Halko, M., Edaief, M., et al. (2011). Characterizing brain cortical plasticity and network dynamics across the age-span in health and disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. *Brain Topogr.* 23, 302–315. doi: 10.1007/s10548-011-0196-8

Peña-Casanova, J., Casals-Coll, M., Quintana, M., Sánchez-Benavides, G., Rognoni, T., Calvo, L., et al. (2012). Estudios normativos españoles en población adulta joven (Proyecto NEURONORMA jóvenes): métodos y características de la muestra. *Neurologia* 27, 253–260. doi: 10.1016/j.nrl.2011.12.019

Pisoni, A., Mattavelli, G., Papagno, C., Rosanova, M., Casali, A. G., and Lauro, L. J. R. (2018). Cognitive enhancement induced by Anodal tDCS drives circuit-specific cortical plasticity. *Cereb. Cortex* 28, 1132–1140. doi: 10.1093/cercor/bhx021

Reitan, R. M., and Wolfson, D. (1985). *The Halstead-Reitan Neuropsychological Test Battery: Theory and Interpretattion.* Tucson, AZ: Neuropsychology Press.

Rocchi, L., Di Santo, A., Brown, K., Ibáñez, J., Casula, E., Rawji, V., et al. (2020). Disentangling EEG responses to TMS due to cortical and peripheral activations. *Brain Stimul.* 14, 4–18. doi: 10.1016/j.brs.2020.10.011

Rogasch, N. C., Sullivan, C., Thomson, R. H., Rose, N. S., Bailey, N. W., Fitzgerald, P. B., et al. (2017). Analysing concurrent transcranial magnetic stimulation and electroencephalographic data: a review and introduction to the open-source TESA software. *Neuroimage* 147, 934–951. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.10.031

Romero Lauro, L. J., Rosanova, M., Mattavelli, G., Convento, S., Pisoni, A., Opitz, A., et al. (2014). Anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) increases cortical excitability: direct evidence from TMS-EEG. *Cortex* 58, 99–111. doi: 10.1016/j.cortex.2014.05.003

Rossi, S., Antal, A., Bestmann, S., Bikson, M., Brewer, C., Brockmöller, J., et al. (2021). Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: expert Guidelines. *Clin. Neurophysiol.* 132, 269–306. doi: 10.1016/j.clinph.2020.10.003

Rossini, P. M., Burke, D., Chen, R., Cohen, L. G., Daskalakis, Z., Di Iorio, R., et al. (2015). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application: an updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin. Neurophysiol.* 126, 1071–1107. doi: 10.1016/j.clinph.2015.02.001

Rowe, J. B., Toni, I., Josephs, O., Frackowiak, R. S. J., and Passingham, R. E. (2000). The prefrontal cortex: response selection or maintenance within working memory? *Science (80-.)* 288, 1656–1660. doi: 10.1126/science.288.5471.1656

Rübsamen, N., Maceski, A., Leppert, D., Benkert, P., Kuhle, J., Wiendl, H., et al. (2021). Serum neurofilament light and tau as prognostic markers for all-cause mortality in the elderly general population—an analysis from the MEMO study. *BMC Med.* 19, 1–10. doi: 10.1186/s12916-021-01915-8

Santarnecchi, E., Polizzotto, N. R., Godone, M., Giovannelli, F., Feurra, M., Matzen, L., et al. (2013). Frequency-dependent enhancement of fluid intelligence induced by transcranial oscillatory potentials. *Curr. Biol.* 23, 1449–1453. doi: 10.1016/j.cub.2013.06.022

Schmidt, M. (1996). *Rey Auditory and Verbal Learning Test: A Handbook*. Los Ángeles: Western Psychological Services.

Skrandies, W. (1990). Global field power and topographic similarity. *Brain Topogr.* 3, 137–141. doi: 10.1007/BF01128870

Solé-Padullés, C., Bartrés-Faz, D., Junqué, C., Clemente, I. C., Molinuevo, J. L., Bargalló, N., et al. (2006). Repetitive transcranial magnetic stimulation effects on brain function and cognition among elders with memory dysfunction. A randomized sham-controlled study. *Cereb. Cortex* 16, 1487–1493. doi: 10.1093/cercor/bhj083

ter Braack, E. M., de Vos, C. C., and van Putten, M. J. A. M. (2015). Masking the auditory evoked potential in TMS–EEG: a comparison of various methods. *Brain Topogr.* 28, 520–528. doi: 10.1007/s10548-013-0312-z

Tremblay, S., Rogasch, N. C., Premoli, I., Blumberger, D. M., Casarotto, S., Chen, R., et al. (2019). Clinical utility and prospective of TMS–EEG. *Clin. Neurophysiol.* 130, 802–844. doi: 10.1016/j.clinph.2019.01.001

Vallesi, A., Del Felice, A., Capizzi, M., Tafuro, A., Formaggio, E., Bisiacchi, P., et al. (2021). Natural oscillation frequencies in the two lateral prefrontal cortices induced by transcranial magnetic stimulation: prefrontal natural frequencies. *Neuroimage* 227, 117655. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.117655

Van Der Werf, Y. D., Sadikot, A. F., Strafella, A. P., and Paus, T. (2006). The neural response to transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. II. Thalamocortical contributions. *Exp. Brain Res.* 175, 246–255. doi: 10.1007/s00221-006-0548-x

Veale, J. F. (2014). Edinburgh Handedness Inventory - Short Form: A revised version based on confirmatory factor analysis. *Laterality* 19, 164–177. doi: 10.1080/1357650X.2013.783045

Vidal-Piñeiro, D., Sneve, M. H., Nyberg, L. H., Mowinckel, A. M., Sederevicius, D., Walhovd, K. B., et al. (2019). Maintained frontal activity underlies high memory function over 8 years in aging. *Cereb. Cortex* 29, 3111–3123. doi: 10.1093/cercor/bhy177

Vidal-Piñeiro, D., Valls-Pedret, C., Fernández-Cabello, S., Arenaza-Urquijo, E. M., Sala-Llonch, R., Solana, E., et al. (2014). Decreased default mode network connectivity correlates with age-associated structural and cognitive changes. *Front. Aging Neurosci.* 6, 256. doi: 10.3389/fnagi.2014.00256

Voineskos, D., Blumberger, D. M., Zomorrodi, R., Rogasch, N. C., Farzan, F., Foussias, G., et al. (2019). Altered transcranial magnetic stimulation–electroencephalographic markers of inhibition and excitation in the dorsolateral prefrontal cortex in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 85, 477–486. doi: 10.1016/j.biopsych.2018.09.032

Wechsler, D. (2012). *WAIS-IV. Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-IV. Manual De Aplicación Y Corrección*. Madrid: NCS Pearson, Inc.

Willis, S. L., Martin, M., and Rocke, C. (2010). Longitudinal perspectives on midlife development: Stability and change. *Eur. J. Ageing* 7, 131–134. doi: 10.1007/s10433-010-0162-4

Wu, T., Chen, C., Spagna, A., Wu, X., Mackie, M. A., Russell-Giller, S., et al. (2020). The functional anatomy of cognitive control: a domain-general brain network for uncertainty processing. *J. Comp. Neurol.* 528, 1265–1292. doi: 10.1002/cne.24804

Yeo, B. T., Krienen, F. M., Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Lashkari, D., Hollinshead, M., et al. (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J. Neurophysiol.* 106, 1125–1165. doi: 10.1152/jn.00338.2011

Conflict of Interest: AP-L is a co-founder of Linus Health and TI Solutions AG; serves on the scientific advisory boards for Starlab Neuroscience, Magstim Inc., Radiant Hearts, and MedRhythms; is listed as an inventor on several issued and pending patents on the real-time integration of non-invasive brain stimulation with electroencephalography and magnetic resonance imaging and is an Associate Editor for Annals of Neurology. HZ has served at scientific advisory boards and/or as a consultant for Abbvie, Alector, Annexon, Artery Therapeutics, AZTherapies, CogRx, Denali, Eisai, Nervgen, Pinteon Therapeutics, Red Abbey Labs, Passage Bio, Roche, Samumed, Siemens Healthineers, Triplet Therapeutics, and Wave, has given lectures in symposia sponsored by Cellectricon, Fujirebio, Alzecure and Biogen, and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB (BBS), which is a part of the GU Ventures Incubator Program (outside submitted work).

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Redondo-Camós, Cattaneo, Perellón-Alfonso, Alviarez-Schulze, Morris, Solana-Sanchez, España-Irla, Delgado-Gallén, Pachón-García, Albu, Zetterberg, Tormos, Pascual-Leone and Bartres-Faz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

frontiers

Supplementary Material

1 Targeting procedure

The cohort had two different target procedures (anatomical or parcellation method) because of other objectives in the main BBHI study. In order to control the possible effect of this variable on the predictors and outcome relationship, the target method was used as a covariate in the statistical analysis.

Twenty participants were included for the anatomical method, and targets were visually and anatomically defined by one investigator (TM). L-PFC stimulation was identified at the superior half of the middle frontal gyrus, approximately 3cm anterior to the precentral sulcus. L-IPL was selected at the superior edge of the angular gyrus around to intraparietal sulcus.

On the other hand, targets of 32 participants were determined based on a group-level resting-state 7 functional networks parcellation (Yeo et al., 2011). We followed the same methodology specified in Ozdemir et al., 2020 for this target procedure (Ozdemir et al., 2020). For each resting-state network, confidence maps were used, representing the confidence of each vertex belonging to its assigned network across a sample of 1000 healthy subjects (expressed as valued between −1 and 1), with larger values indicating high confidence. We used group-level functional parcellations and confidence maps on the Montreal Neurological Institute (MNI) template. We target the most consistent and reliable brain areas within the angular gyrus and the middle frontal gyrus, with the highest likelihood of occurring in the default mode network.

The mean coordinates of the anatomical targeting method were x=-33, y=37, z=52 for PFC, and x=-39, y=-69, z=53 for IPL. Whereas for the functional target method were x= -51, y= 30, z=33 for PFC, and x= -55, y= -69, z=30 for IPL.

Supplementary Material

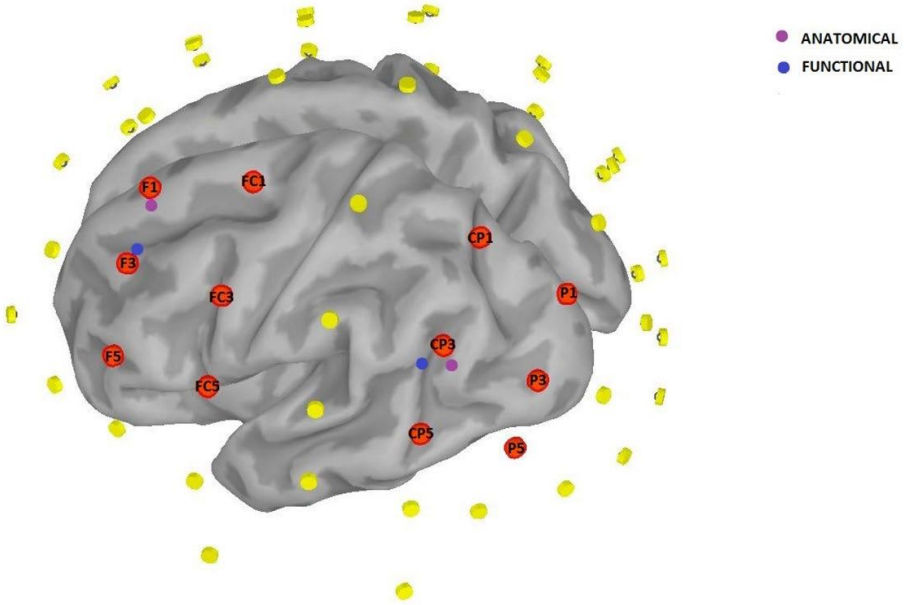

Figure S1: Mean L-PFC and L-IPL coordinates for the anatomical and functional targeting method. Red circles are the subset of electrodes used to calculate Local Mean-Field Power (LMFP) for each brain region. Both yellow and red circles are the electrodes used to calculate Global-Mean Field Power.

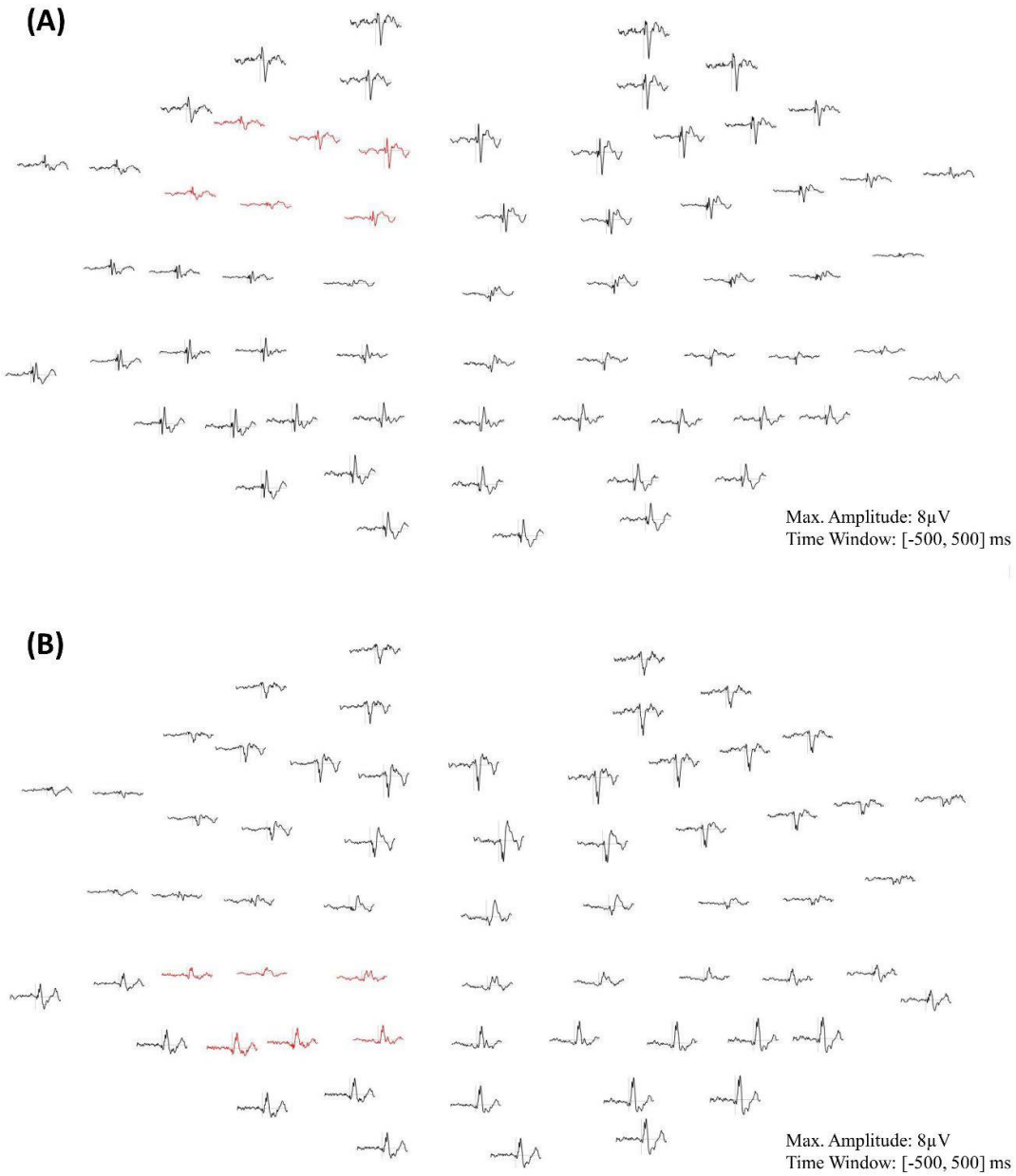

Figure S2: Average electroencephalographic responses from -500ms (pre-TMS) to +500ms (post-TMS) recorded from all EEG channels after PFC (A) and IPL (B) stimulation. Red responses correspond to the electrodes used to calculate LMFP.

Supplementary Material

2 Results

2.1 Descriptive statistics table

Table S1. Cognitive test scores divided into cognitive domains and functions (n=52)

Cognitive Domain	Specific Cognitive Function	Cognitive Task	Min	Max	Mean	SD
Episodic Memory	Short-term memory	RAVLT immediate recall	32	66	51.69	7.70
		Digit-Span Forward	7	18	10.94	2.79
		Corsi block tapping	8	19	14.65	2.73
	Long-term memory	RAVLT delayed recall	6	15	11.48	2.45
		RAVLT Recognition	12	15	14.56	.85
Working Memory	Verbal working memory	Digit-Span Backward	7	19	11.35	2.81
		Letter-Number Sequencing	9	18	14.33	2.47
Reasoning	Visuospatial reasoning	Matrix Reasoning WAIS-IV	8	19	14.64	2.38
		Block Design WAIS-IV	4	18	12.29	3.06
Flexibility	Alternating attention	TMT B	6	14	8.68	1.98
Processing speed	Visuomotor speed	Digit symbol task	9	19	13.71	2.55
	Visual searching	TMT A	6	18	11.21	2.80
	Visual searching and selective attention	Cancellation test	4	16	11.44	2.42

Note: RAVLT immediate recall= Recall a list of words immediately after hearing it of Rey Auditory Verbal Learning Test; RAVLT delayed recall = RAVLT recall after 30min; RAVLT recognition = Recognition of words from a word list of RAVLT; Digit-Span Forward = Immediate recall a series of numbers in the same order; Letter-Number Sequencing = Sequence a random order of numbers and letter; Matrix Reasoning WAIS-IV = Logical sequences and

series of Wechsler Adult Intelligence Scale-IV; Block Design WAIS-IV = Block Design of Wechsler Adult Intelligence Scale-IV; TMT B = Trail Making Test part B; TMT A = Trail Making Test part A; Digit symbol task = Digit symbol association; Cancellation test = cancellation task. All punctuations presented in this table are normalized scores except RAVLT tests that are raw scores.

2.2 Multivariate regression models for L-PFC and cognition (with covariates)

Table S2. Multivariate tests (PFC) including covariates.

Effect	Value[1]	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Age	.631	3.28	5	28	.019*	.369
Biological sex	.732	2.05	5	28	.102	.268
Education	.763	1.74	5	28	.157	.237
Targeting method	.848	1.01	5	28	.434	.152
NfL	.717	2.21	5	28	.081	.283
LMFP Post-TMS	.658	2.91	5	28	.031*	.342
GMFP Post-TMS	.799	1.41	5	28	.253	.201

[1] Wilks' Lambda

*p<.05

Table S3. Tests of between subjects effects (PFC) including covariates.

Source	Dependent Variable	Type III sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Square
Targeting Method	Episodic Memory	.49	1	.49	.05	.825	.002
	Reasoning	5.21	1	5.21	3.17	.084	.090
	Working Memory	1.14	1	1.14	.59	.446	.018

5

	Processing speed	1.51	1	1.51	.40	.531	.012
	Flexibility	.29	1	.29	.07	.787	.002
Age	Episodic Memory	8.93	1	8.93	.90	.349	.027
	Reasoning	11.10	1	11.10	6.76	.014	.174
	Working Memory	4.73	1	4.73	2.46	.127	.071
	Processing speed	14.46	1	14.46	3.85	.059	.107
	Flexibility	.93	1	.93	.24	.628	.007
Biological sex	Episodic Memory	8.34	1	8.34	.84	.366	.026
	Reasoning	9.01	1	9.01	5.48	.026	.146
	Working Memory	.15	1	.15	.08	.779	.002
	Processing speed	6.86	1	6.86	1.82	.186	.054
	Flexibility	.88	1	.88	.23	.637	.007
Education	Episodic Memory	6.06	1	6.06	.61	.440	.019
	Reasoning	.64	1	.64	.39	.536	.012
	Working Memory	8.13	1	8.13	4.22	.048	.117
	Processing speed	.27	1	.27	.07	.792	.002
	Flexibility	5.32	1	5.32	1.37	.250	.041
NfL	Episodic Memory	.44	1	.44	.05	.834	.001
	Reasoning	5.09	1	5.09	3.10	.088	.088
	Working Memory	5.54	1	5.54	2.88	.099	.083
	Processing speed	8.09	1	8.09	2.15	.152	.063
	Flexibility	3.99	1	3.99	1.03	.318	.031
GMFP Post-TMS	Episodic Memory	2.84	1	2.84	.29	.596	.009
	Reasoning	1.38	1	1.38	.84	.366	.026

	Working Memory	2.29	1	2.29	1.19	.283	.036
	Processing speed	2.02	1	2.02	.54	.469	.017
	Flexibility	9.27	1	9.27	2.39	.132	.070
Local	Episodic Memory	.87	1	.87	.09	.769	.003
Post-TMS	Reasoning	7.73	1	7.73	4.70	.038	.128
	Working Memory	9.64	1	9.64	5.01	.032	.135
	Processing speed	9.93	1	9.93	2.64	.114	.076
	Flexibility	9.75	1	9.75	2.51	.123	.073

2.3 Multivariate regression models for L-PFC and cognition (without covariates)

Table S4. Multivariate tests (PFC) without covariates.

Effect	**Value[1]**	**F**	**Hypothesis df**	**Error df**	**Sig.**	**Partial Eta Squared**
LMFP Post-TMS	.91	.63	5	33	.675	.088
GMFP Post-TMS	.82	1.45	5	33	.232	.182

[1] Wilks' Lambda

*p<.05

Table S5. Tests of between subjects effects (PFC) without covariates.

Source	**Dependent Variable**	**Type III sum of squares**	**df**	**Mean Square**	**F**	**Sig.**	**Partial Eta Square**
GMFP Post-TMS	Episodic Memory	.75	1	.75	.08	.777	.002
	Reasoning	.15	1	.15	.05	.819	.001

	Working Memory	.03	1	.03	.01	.908	.000
	Processing speed	5.68	1	5.68	1.17	.285	.031
	Flexibility	8.57	1	8.57	2.25	.142	.057
Local	Episodic Memory	6.70	1	6.70	.73	.399	.019
Post-TMS	Reasoning	.16	1	.16	.06	.813	.002
	Working Memory	13.52	1	13.52	6.47	.015	.149
	Processing speed	12.36	1	12.36	2.56	.118	.065
	Flexibility	5.13	1	5.13	1.35	.254	.035

2.4 Multivariate regression models for L-IPL and cognition (with covariates)

Table S6. Multivariate tests (IPL) including covariates.

Effect	Value[1]	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Age	.78	1.29	5	23	.304	.219
Biological sex	.65	2.51	5	23	.059	.353
Education	.92	.39	5	23	.850	.078
Targeting method	.66	2.37	5	23	.072	.340
NfL	.86	.74	5	23	.601	.139
LMFP Post-TMS	.93	.33	5	23	.888	.067
GMFP Post-TMS	.91	.44	5	23	.815	.088

[1] Wilks' Lambda

*p<.05

Table S7. Tests of between-subjects effects (IPL) including covariates.

Source	Dependent Variable	Type III sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Square
Targeting Method	Episodic Memory	.06	1	.056	.01	.945	.000
	Reasoning	14.90	1	14.896	6.34	.018	.190
	Working Memory	.51	1	.505	.17	.685	.006
	Processing speed	1.27	1	1.268	.30	.592	.011
	Flexibility	5.29	1	5.286	1.28	.268	.045
Age	Episodic Memory	7.44	1	7.440	.65	.428	.023
	Reasoning	12.20	1	12.196	5.19	.031	.161
	Working Memory	.03	1	.026	.01	.927	.000
	Processing speed	17.62	1	17.624	4.10	.053	.132
	Flexibility	1.71	1	1.713	.41	.525	.015
Biological sex	Episodic Memory	1.26	1	1.260	.11	.743	.004
	Reasoning	2.90	1	2.902	1.24	.276	.044
	Working Memory	11.34	1	11.340	3.77	.063	.122
	Processing speed	.21	1	.212	.05	.826	.002
	Flexibility	1.45	1	1.449	.35	.559	.013
Education	Episodic Memory	7.48	1	7.482	.65	.427	.024
	Reasoning	.31	1	.311	.13	.719	.005
	Working Memory	6.11	1	6.107	2.03	.166	.070
	Processing speed	2.54	1	2.540	.59	.449	.021
	Flexibility	5.54	1	5.536	1.34	.257	.047
NfL	Episodic Memory	8.02	1	8.015	.70	.411	.025

	Reasoning	1.02	1	1.021	.43	.516	.016
	Working Memory	2.23	1	2.228	.74	.397	.027
	Processing speed	5.22	1	5.221	1.21	.280	.043
	Flexibility	.17	1	.171	.04	.840	.002
GMFP Post-TMS	Episodic Memory	2.01	1	2.008	.18	.679	.006
	Reasoning	2.79	1	2.785	1.19	.286	.042
	Working Memory	1.35	1	1.351	.45	.509	.016
	Processing speed	.09	1	.094	.02	.883	.001
	Flexibility	.45	1	.446	.11	.745	.004
Local Post-TMS	Episodic Memory	3.45	1	3.446	.30	.589	.011
	Reasoning	1.96	1	1.957	.83	.370	.030
	Working Memory	.50	1	.504	.17	.686	.006
	Processing speed	.03	1	.032	.01	.932	.000
	Flexibility	.11	1	.113	.03	.870	.001

2.5 Multivariate regression models for L-IPL and cognition (without covariates)

Table S8. Multivariate tests (IPL) without covariates.

Effect	Value[1]	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
LMFP Post-TMS	.97	.19	5	28	.965	.032
GMFP Post-TMS	.94	.39	5	28	.854	.064

[1] Wilks' Lambda

*p<.05

Table S9. Tests of between subjects effects (IPL) without covariates.

Source	Dependent Variable	Type III sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Square
GMFP Post-TMS	Episodic Memory	.21	1	.21	.02	.889	.001
	Reasoning	.15	1	.15	.05	.828	.002
	Working Memory	2.81	1	2.81	.82	.373	.025
	Processing speed	1.00	1	1.00	.19	.670	.006
	Flexibility	.24	1	.24	.06	.808	.002
Local Post-TMS	Episodic Memory	1.07	1	1.07	.10	.749	.003
	Reasoning	.01	1	.01	.00	.957	.000
	Working Memory	1.31	1	1.31	.38	.542	.012
	Processing speed	.27	1	.27	.05	.824	.002
	Flexibility	.29	1	.29	.07	.788	.002

2.6 Neurofilaments level and cognition correlations

Table S10. NfL level and cognitive functions

	NfL (*r*)
Episodic Memory	.050
Working Memory	.046
Reasoning	-.373**
Processing Speed	-.338*
Flexibility	-.293*

*p<.05. **p<.01

3 Supplementary material references:

Yeo. B. T.. Krienen. F. M.. Sepulcre. J.. Sabuncu. M. R.. Lashkari. D.. Hollinshead. M.. et al. (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J. Neurophysiol.* 106. 1125–1165. doi:10.1152/jn.00338.2011.

5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

En el primer estudio de la presente tesis doctoral se quiso explorar si existía relación entre el equilibrio E/I en la corteza motora primaria (medido con el UM y el LICI) y las funciones cognitivas, así como el posible impacto del género en los resultados. Para llevarlo a cabo, se incluyeron 97 adultos de mediana edad (54 ± 7,14 años), entre los que se encontraban 53 hombres y 44 mujeres. Los voluntarios no presentaban ninguna enfermedad neurológica y/o psiquiátrica, y se caracterizaron por tener un nivel educativo alto (18 ± 3,81 años) y ser diestros —dominancia manual medida con Edinburgh Handedness Questionnaire (198,199)—.

Para empezar, se calcularon las medidas EMT (UM y LICI), y se agruparon los resultados de las pruebas neuropsicológicas mediante el análisis de componentes principales. En total se obtuvieron cuatro dominios cognitivos, entre los que se encontraban: atención [TMT B (–0,927), TMT B-A (–,884), TMT A (–,615), claves de números (,554) y cancelación (,423)], memoria episódica [S-FNAME (,609) y RAVLT: recuerdo inmediato (,885), diferido (,872) y reconocimiento (,830)], memoria de trabajo [dígitos directos (,780), dígitos inversos (,777) y letras y números (,504)], y razonamiento [cubos (,758), cubos de Corsi (,678) y matrices (,620)]. Además, se creó una medida de cognición global a partir de la suma de las puntuaciones Z de cada prueba neuropsicológica.

Las posibles relaciones entre la excitabilidad (UM), la inhibición (LICI) y las funciones cognitivas se estudiaron mediante regresiones múltiples multivariadas tanto para toda la muestra como para las submuestras segmentadas por género. Solamente en los resultados significativos se ejecutaron regresiones múltiples lineales para valorar la dirección de la predicción, incluyendo en cada modelo la función cognitiva como variable dependiente, y LICI, UM, amplitud MEP, edad, género y educación como regresores.

Cuando se estudiaron los 97 participantes, la asociación estadísticamente significativa más relevante fue la encontrada entre LICI y la memoria de trabajo [$F(1, 89) = 7{,}59$, $p = {,}007$; η^2 parcial = ,079]. Además, en el posterior modelo de regresión múltiple [$F(6, 89) = 2{,}630$, $p = {,}021$, adj. $R2 = {,}093$], LICI se asoció negativamente con memoria de trabajo (β estandarizada = –,282, $t = -2{,}754$, $p = {,}007$), indicando que una mayor inhibición motora estaba relacionada con mejor memoria de trabajo. Otras relaciones encontradas fueron entre el género y la memoria episódica [$F(1, 89) = 9{,}50$, $p = {,}003$; η^2 parcial = ,099] y el razonamiento [$F(1, 89) = 4{,}26$, $p = {,}042$; η^2 parcial = ,046], así como de la edad con todas las funciones cognitivas —atención [$F(1, 89) = 17{,}38$, $p < {,}001$; η^2 parcial = ,163], memoria episódica [$F(1, 89) = 10{,}01$, $p = {,}002$; η^2 parcial = ,101], memoria de trabajo [$F(1, 89) = 5{,}45$, $p = {,}022$; η^2 parcial = ,058], razonamiento [$F(1, 89) = 6{,}66$, $p = {,}011$; η^2 parcial = ,070], y cognición global [$F(1, 89) = 14{,}50$, $p < {,}001$; η^2 parcial = ,140]—. No se encontraron relaciones significativas entre la medida de excitabilidad (UM) y la cognición.

Por último, para examinar el efecto del género sobre las predicciones, se repitieron todos los análisis anteriores segmentando la muestra en dos grupos (hombres y mujeres). Únicamente en hombres se observaron asociaciones entre la medida LICI y la memoria de trabajo [F (1,

47) = 6,60, p = .013; η2 parcial = ,123], el razonamiento [F (1, 47) = 5,82, p = ,020; η2 parcial = ,110] y la cognición global [F (1, 47) = 9,22, p = ,004; η2 parcial = ,164]. Concretamente, LICI se relacionó negativamente con las tres funciones cognitivas —memoria de trabajo (β estandarizada = –,347, t = –2,569, p = ,013), razonamiento (β estandarizada = –,302, t = –2,411, p = ,020) y cognición global (β estandarizada = –,380, t = –3,036, p = 004)—, asociando una mayor inhibición motora a un mejor funcionamiento cognitivo. Además, la educación se relacionó con el razonamiento [F (1, 47) = 6,02, p = ,018; η2 parcial = 0,114] y la memoria episódica [F (1, 47) = 4,15, p = ,047; η2 parcial = ,081], y la edad con todos los dominios cognitivos —atención [F (1, 47) = 4,18, p = ,047; η2 parcial = ,082], memoria episódica [F (1, 47) = 8,37, p = ,006; η2 parcial = ,151], memoria de trabajo [F (1, 47) = 4,64, p = ,03; η2 parcial = ,090], razonamiento [F (1, 47) = 9,01, p = ,004; η2 parcial = ,161] y cognición global [F (1, 47) = 7,40, p = ,009; η2 parcial = ,136]—. Por otro lado, en el grupo femenino no se encontraron relaciones significativas entre cognición y excitabilidad/inhibición cortical (UM y LICI), únicamente se obtuvieron resultados significativos entre edad y atención [F (1, 37) = 11,65, p = ,002; η2 parcial = ,240].

Finalmente, el objetivo del segundo estudio fue en la misma línea que el anterior. Esta vez se estudió la relación entre la excitabilidad de la región prefrontal y las funciones cognitivas, así como se valoró si la posible asociación era independiente al daño axonal (medido mediante NfL). En este caso, debido a la complejidad metodológica en la recogida y procesamiento de los datos EEG, la muestra tuvo un tamaño menor (n = 52; 36 hombres), aunque con características grupales similares (54 ± 6,85 años; 18 ± 3,83 años educativos).

Para hacerlo, se procesaron exhaustivamente los datos EEG para calcular las medidas de excitabilidad cortical local (LMFP) de las cortezas prefrontal y parietal izquierdas, así como la excitabilidad global de todo el cerebro (GMFP). En cuanto a la parte neuropsicológica, se agruparon teóricamente los resultados cognitivos en cinco dominios, entre los cuales se encontraban la memoria episódica —RAVLT (recuerdo inmediato, diferido y reconocimiento), dígitos directos y cubos de Corsi—, la memoria de trabajo (dígitos inversos, letras y números), el razonamiento (matrices y cubos), la flexibilidad (TMT B, B-A) y la velocidad de procesamiento (TMT A, claves de números y cancelación). Por último, se obtuvo la medida de NfL indicativa de daño neuroaxonal mediante el análisis de muestras de sangre de cada participante.

Primero, se exploró si existían cambios en la excitabilidad local y global antes y después de la estimulación. Para ello, se aplicaron ANOVA para medidas repetidas utilizando dos variables como factores intrasujetos: «tiempo» (antes y después de la estimulación) y «tipo de campo eléctrico» (LMFP y GMFP). Estos análisis mostraron un efecto en la variable «tiempo», donde se observó una diferencia entre la excitabilidad cortical antes y después de la estimulación [corteza prefrontal: F (1, 39) = 54,05, p < ,001; corteza parietal: F (1, 34) = 20,01, p < ,001]. También hubo un efecto significativo en el «tipo de campo eléctrico» estudiado [corteza prefrontal: F (1,39) = 69,02, p < ,001; corteza parietal: F (1,34) = 89,38, p < ,001], siendo mayor la excitabilidad local [corteza prefrontal: promedio (M) = 262,32; desviación estándar (SD) = 13,90; corteza

parietal: M = 260,10; SD = 15,78] que la excitabilidad global [corteza prefrontal: M = 206,91; SD = 9,54; corteza parietal: M = 200,63; SD = 12,02]. De manera similar, la interacción entre «tiempo» y «tipo de campo eléctrico» fue significativa [corteza prefrontal: F (1,39) = 145,97, p < ,001; corteza parietal: F (1,34) = 143,96, p < ,001], lo que indica una diferencia en el efecto de la estimulación local frente a la global. En este caso, solo la excitabilidad cortical local (LMFP) fue significativamente diferente antes y después de la estimulación [corteza prefrontal: t (39) = 13,56, p < ,001, d = 2,14; corteza parietal: t (34) = 8,55, p < ,001, d = 1,44].

A continuación, se estudió la posible relación entre la excitabilidad cortical local y global y la cognición. Para ello, se aplicaron regresiones multivariadas para cada región de estimulación (cortezas prefrontal y parietal). Usando la región parietal como condición de control, se probó si las asociaciones con la cognición eran específicas de la corteza prefrontal. En los modelos se utilizaron las funciones cognitivas como variables dependientes, y el «tipo de campo eléctrico», el tipo de método utilizado en la selección de coordenadas (anatómico o funcional), el nivel de NfL, la edad, el género y los años educativos como predictores. De todo lo anterior, únicamente se obtuvieron resultados en la corteza prefrontal. En dicha zona, la excitabilidad local medida después de la estimulación y la memoria de trabajo se asociaron positivamente [F (1, 32) = 5,01, p = ,032; η2 parcial = ,135]. También se vieron relaciones del razonamiento con la edad [F (1, 32) = 6,76, p = ,014; η2 parcial = ,174] y la excitabilidad local postestimulación [F (1, 32) = 4,70, p = ,038; η2 parcial = ,128].

Finalmente, se quiso explorar la asociación entre el daño axonal y la cognición. Para ello se realizó una correlación bivariada, en la que se obtuvieron relaciones significativas negativas entre el nivel de NfL y el razonamiento (r = –,373, p = ,006), la velocidad de procesamiento (r = –,338, p = ,014), y la flexibilidad cognitiva (r = –,293, p = ,035). Sin embargo, los análisis posteriores demostraron que las relaciones entre los niveles de NfL y la función cognitiva estaban explicadas por las diferencias de edad entre los individuos, ya que al ajustar los modelos por esta variable no se obtuvo ningún efecto significativo.

6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

La caracterización exhaustiva de la salud cerebral durante el envejecimiento requiere la identificación de biomarcadores que sean sensibles a pequeños cambios a lo largo del tiempo. En este sentido, el estudio de las propiedades y cambios que ocurren en la corteza cerebral en etapas preclínicas podría ayudar en el diseño de programas de detección e intervención temprana para prevenir el desarrollo de enfermedades y mantener la salud cerebral.

En la presente tesis doctoral se propone que, dentro de este marco, la combinación de la EMT con EMG y EEG, las cuales permiten medir la excitabilidad cortical tanto en áreas motoras como no motoras, podría representar nuevas herramientas para obtener información de marcadores biológicos relevantes sobre el estado de la salud cerebral. De hecho, la alteración de las medidas de excitabilidad en un área cerebral podría asociarse a cambios en la actividad en otras regiones conectadas, y, en consecuencia, a las funciones cognitivas asociadas. Mientras que se han establecido vínculos entre estas medidas y el deterioro cognitivo en una variedad de condiciones médicas (27–31), poco se conoce sobre cómo se asocia con la cognición en la población adulta sana.

En esta línea se han realizado dos trabajos. En el primero, se ha relacionado la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical de M1 izquierda con las funciones cognitivas (atención y velocidad de procesamiento, flexibilidad cognitiva, memoria de trabajo, razonamiento y memoria). En el segundo estudio, se han asociado las mismas variables cognitivas con la excitabilidad del área prefrontal izquierda.

Relación entre la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical motora, medidas mediante EMT–EMG, y las funciones cognitivas en adultos sanos de mediana edad

En el primer estudio hemos demostrado que al aplicar un protocolo de pulsos apareados EMT sobre la M1 izquierda, la inhibición intracortical (medida con LICI) está positivamente relacionada con las funciones cognitivas, en concreto con la memoria de trabajo. Al segmentar la muestra por género este efecto se presenta únicamente en hombres, donde se encuentra también una relación con el razonamiento y la cognición global. Por otro lado, no se ha podido demostrar la asociación entre la cognición y la excitabilidad cortical motora (medida con el UM).

Los resultados son similares a otros estudios con poblaciones patológicas y sanas. La hiperexcitabilidad motora (debida a un incremento de la actividad excitatoria y/o a un déficit inhibitorio) se ha relacionado con una disfunción cognitiva en sujetos con enfermedades neurológicas (51,52,55), y a una peor cognición en personas sanas (23,24). Todo esto sugiere la necesidad de un equilibrio E/I para un óptimo funcionamiento cognitivo (25).

La relación entre la respuesta a la estimulación en M1 y la cognición podría ser debida a las conexiones funcionales que presenta dicha región con las áreas implicadas en el procesamiento cognitivo (200,201). El área prefrontal, por ejemplo, esencial en el desarrollo de las funciones cognitivas, está muy conectada con otras áreas cerebrales como la corteza motora (189). En este sentido, se ha observado que la perturbación en la estructura o funcionalidad del área prefrontal

—como ocurre en el envejecimiento o en el EA (202,203)—, no solo modificaría su propia excitabilidad cortical (204), sino la de otras áreas como la corteza motora (189). Se ha postulado que estas dos áreas podrían tener raíces evolutivas parecidas, lo que podría hacer más clara la relación entre ambas en cuanto al control de las funciones ejecutivas y la intencionalidad de los movimientos (205,206). Dentro de las funciones ejecutivas, concretamente, las que se han relacionado más directamente con los procesos motores son la memoria de trabajo (186,206,207), la atención y, por otro lado, el aprendizaje (208).

El neurotransmisor GABA se encuentra involucrado en la regulación de la actividad cerebral y la plasticidad neuronal, y es fundamental en el procesamiento de la información y la función cognitiva normal (36,37). En el presente estudio solo la inhibición motora se asoció positivamente con el rendimiento cognitivo, indicando que una alteración en los mecanismos relacionados con GABA podría estar implicada en esta relación. De hecho, el paradigma de estimulación que se utiliza en este primer estudio (LICI) reflejaría el funcionamiento de la neurotransmisión inhibitoria GABA-B (104). Una alteración en las concentraciones GABA se ha relacionado a peores puntuaciones cognitivas en distintas enfermedades (37,209,210), y el receptor GABA-B se ha relacionado previamente con muchos procesos como la modelación de circuitos neuronales y el aprendizaje (211,212). Más concretamente y en línea con los resultados, con la correcta formación de memorias (212–214) y el rendimiento en tareas de memoria de trabajo (36,215). Esta última se ha relacionado con la actividad gabaérgica prefrontal y motora (189). Freeman *et al.* (2016) encontraron que, durante las tareas con alta carga de memoria de trabajo, la inhibición intracortical motora estaba aumentada. Con ello se demostró que la memoria de trabajo, aunque fuertemente relacionada con la corteza prefrontal según la dificultad de la tarea, requeriría de una inhibición motora eficiente (189). Estos resultados también fueron respaldados por Liao *et al.* (2014), que describieron que tanto la red motora como M1 están involucradas en el procesamiento de la memoria de trabajo (186).

Por otro lado, también se examinó la existencia de diferencias entre las medidas de excitabilidad e inhibición intracortical y la cognición cuando se dividió la muestra por género. En primer lugar, se observó que las mujeres presentaban una sutil mayor inhibición intracortical que los hombres, pero que esta diferencia no era estadísticamente significativa. Esto podría explicarse ya que la inhibición, normalmente superior en mujeres, podría estar influenciada por diferencias en la maduración cerebral del sistema inhibitorio (216), las áreas cerebrales activadas (69,217,218), o las hormonas ováricas (219,220). De hecho, la influencia hormonal (por ejemplo, estradiol o progesterona) alteraría el sistema gabaérgico y, en consecuencia, variaría el estado de ánimo y la función cognitiva (221,222). En segundo lugar, y solo en el grupo de hombres, se encontró una asociación positiva entre la inhibición intracortical y la cognición (memoria de trabajo, razonamiento y cognición global). La literatura sobre esta relación es escasa y contradictoria. Mientras que Schicktanz *et al.* (2014) relacionaron positivamente la excitabilidad cortical motora con la memoria de trabajo en hombres (117), Akilan *et al.* (2020) lo hicieron negativamente con la cognición global en mujeres (24). Esta variabilidad en los resultados podría ser debida a la

diferencia de edad entre los estudios —Schicktanz *et al.*: 22,71 ± 5,38 años; Akilan *et al.*: 41,94 ± 21,98 años—, o a las funciones cognitivas estudiadas. Aunque más investigaciones deberán aclarar estas discrepancias, tanto los resultados del presente estudio como los de los anteriormente comentados podrían ir a favor de la existencia de diferencias según el género entre la excitabilidad/inhibición y la cognición (24,117).

En conclusión, este primer estudio comprueba parcialmente la primera hipótesis:

> El UM y el LICI, dos medidas de excitabilidad corticoespinal e inhibición intracortical de la corteza motora primaria, están asociadas con la función cognitiva. Concretamente, un UM bajo (mayor excitabilidad motora) y un LICI alto (menor inhibición intracortical) se asocian a peores funciones cognitivas.

Se ha podido demostrar que la medida LICI de inhibición intracortical está asociada a la función cognitiva (a mayor LICI, menor inhibición y mejor rendimiento cognitivo). No obstante, no ha sido posible describir una asociación significativa entre la medida de UM y la función cognitiva.

La presente investigación amplía el conocimiento sobre LICI en personas sanas, y podría afianzar esta medida aún más como un posible biomarcador de trastornos neuropsiquiátricos (115). Este estudio sugiere que una mayor inhibición intracortical, o un LICI bajo, podría ser un marcador de diferencias interindividuales en el rendimiento de la memoria de trabajo en adultos sanos de mediana edad.

Relación entre la excitabilidad cortical, medida mediante EMT–EEG en la corteza prefrontal izquierda, y las funciones cognitivas en adultos sanos de mediana edad

En este segundo trabajo se ha demostrado que, al aplicar EMT-EEG sobre la corteza prefrontal izquierda, la excitabilidad cortical medida localmente en la misma área, mediante el campo eléctrico local (LMFP), se asocia positivamente con las funciones ejecutivas, en concreto la memoria de trabajo y el razonamiento. No obstante, no se ha podido verificar que, al aplicar la misma técnica sobre el área parietal (utilizada como control), la excitabilidad cortical de dicha región estuviera relacionada con los dominios cognitivos estudiados (memoria episódica, memoria de trabajo, razonamiento, velocidad de procesamiento y cognición global). Por último, se ha demostrado que el daño neuroaxonal individual no juega un papel importante en las asociaciones descritas entre la excitabilidad cortical prefrontal y la cognición. No obstante, se ha observado una correlación directa significativa entre el nivel de NfL en plasma y las funciones cognitivas, aunque dicho efecto desaparecía al controlar por la edad.

La excitabilidad cortical se ha relacionado previamente con factores como el uso de alcohol, la medicación o algunos parámetros EMT (76,77,124). También, la actividad y la conectividad en distintas áreas cerebrales, como la prefrontal y la parietal, se han asociado con la cognición (223,224), estando el área prefrontal más vinculada a las funciones ejecutivas y el control cognitivo (223), y la parietal al lenguaje y la cognición social (225). Concretamente, estos

resultados confirman una relación entre el área prefrontal y las funciones cognitivas, hecho que también observaron Ngetich *et al.* (2020) en su investigación, donde concluyeron que existía un cambio en las funciones ejecutivas (memoria de trabajo y toma de decisiones) una vez aplicada EMT repetitiva sobre el prefrontal izquierdo (226). De forma parecida, otro equipo de investigadores, al estudiar una población EA, concluyó que un incremento en la excitabilidad cortical prefrontal se relacionaba negativamente con medidas de cognición global y funciones ejecutivas (51), sugiriendo otra vez una posible relación entre las funciones cognitivas y la actividad evocada prefrontal.

El área prefrontal tiene un rol específico en la modulación *top down* del procesamiento cognitivo y esta podría ser la razón por la que únicamente se observó una asociación entre la LMFP y la cognición una vez estimulada la corteza prefrontal (177). Principalmente, se encontraron asociaciones positivas significativas con la memoria de trabajo y el razonamiento. En primer lugar, la memoria de trabajo, el área prefrontal y su relación en animales y humanos se han estudiado extensamente en la última década. Se ha sugerido que la corteza prefrontal se encuentra fuertemente relacionada con el proceso cognitivo que permite mantener la información disponible y seleccionada, para poder proporcionar una respuesta (227). A su vez, se ha propuesto que, mientras el área prefrontal es fundamental para la manipulación y selección de información relevante, una zona más posterior (por ejemplo, el área 8 de Brodmann) estaría involucrada en los mecanismos de mantenimiento (228,229). En segundo lugar, las tareas de razonamiento también se han relacionado constantemente con la actividad y la integridad prefrontal, ya que esta región podría estar fuertemente envuelta en el procesamiento lógico (230–232).

Además, la asociación entre la cognición y la actividad y conectividad prefrontal es especialmente importante al estudiar cómo mantener las funciones cognitivas durante el envejecimiento. De hecho, se ha sugerido que la actividad prefrontal se podría relacionar con el reclutamiento de mecanismos compensatorios que permiten mantener el estado cognitivo frente a los cambios cerebrales vinculados a la edad (190,233,234).

Otro aspecto estudiado fue el nivel de NfL, un marcador de daño neuroaxonal que se ha hallado en altas concentraciones en enfermedades como el EA, la enfermedad de Parkinson o la esclerosis múltiple (235,236). Los resultados mostraron que, a pesar de que en un primer momento sí que estaban asociados negativamente con la cognición, el efecto desaparecía cuando se controlaba por la edad. Tampoco se observó que los NfL tuvieran una influencia significativa en la relación previamente identificada entre la excitabilidad cortical y las funciones cognitivas. Algunos estudios recientes en población sana (68,237,238) exploraron la relación entre la cantidad de NfL, la estructura cerebral y las puntuaciones cognitivas, y sugirieron que en altos niveles podían estar asociados a atrofia cerebral, y en consecuencia a una peor cognición. La muestra del presente estudio se caracterizaba por ser una población de mediana edad, sin alteración cognitiva, en la que el nivel de NfL no influía en la predicción entre excitabilidad y cognición, y todo esto podría ser debido a la colinealidad entre la edad y el nivel de NfL, o bien porque la mayoría de los

resultados de anteriores estudios se centraron en distintos tipos de poblaciones, entre las que se encontraban personas mayores. Con la finalidad de determinar el significado y la potencial utilidad clínica de los NfL en plasma, sigue siendo necesaria una mayor investigación en población sana de mediana edad (68).

Finalmente, el presente estudio comprueba parcialmente la segunda hipótesis:

> Las distribuciones de campo eléctrico local y global (LMFP y GMFP) obtenidas tras aplicar EMT-EEG sobre la corteza prefrontal (área muy relevante en la cognición) se relacionan con las funciones cognitivas implicadas en esta área de interés.

La excitabilidad cortical prefrontal local sí que parece ser relevante en la cognición, pero no se observan resultados significativos para la medida de excitabilidad global. Los resultados indican que la excitabilidad cortical LMFP del prefrontal izquierdo caracterizada mediante EMT-EEG está relacionada con la memoria de trabajo y el razonamiento en personas adultas sanas de mediana edad, y que otras variables (daño neuroaxonal, edad, género y educación) no influyen en dicha relación. Por lo que las diferencias individuales en la excitabilidad cortical al aplicar estimulación prefrontal podrían ser un biomarcador práctico, específico, sensitivo y simple para la medición de las funciones cognitivas, independientemente de la degeneración cerebral global y axonal, pudiendo representar esta métrica EMT-EEG un biomarcador importante y valioso para la cognición.

Discusión final

En la presente tesis doctoral se ha logrado describir dos biomarcadores de salud cerebral en población sana. El primer biomarcador sería el LICI en M1, medida de inhibición intracortical, asociado a la función neurotransmisora GABA-B (239). El segundo biomarcador sería el LMFP en prefrontal, magnitud de excitabilidad cortical local (240).

Hasta el momento, solamente se ha encontrado un estudio que haya relacionado el estado excitatorio e inhibitorio entre la corteza prefrontal y la M1 con la cognición (189). En este, Freeman *et al.* (2016) exploraron la activación de ambas regiones durante tareas de memoria de trabajo que requerían de distintas cargas cognitivas. Observaron que, durante tareas con alta carga, existía una mayor inhibición intracortical en M1 (medida con LICI) y una mayor excitabilidad prefrontal. Por el contrario, durante las tareas más automáticas, donde se requería baja carga cognitiva, observaron una mayor excitabilidad motora e inhibición prefrontal (189). Los resultados del presente trabajo siguen la línea de este estudio, y parecen sugerir que una mayor excitabilidad prefrontal y una mayor inhibición motora podrían ser dos indicadores de mejor rendimiento cognitivo, sobre todo en memoria de trabajo y razonamiento. Aun así, sería relevante realizar una investigación relacionando el estado de ambas regiones con estas y otras funciones cognitivas.

Tomados en conjunto, los resultados descritos en el presente estudio son importantes ya que pueden ayudar a entender mejor el vínculo entre las bases neurofisiológicas y la cognición. De hecho, estudiar conjuntamente la EMT con electrofisiología y la cognición, podría ser potencialmente de más utilidad, que su investigación por separado para identificar biomarcadores de progresión entre la adultez de mediana edad y la tardía (> 65 años), así como para el estudio de su deterioro. En esta línea, Abellaneda-Perez *et al.* (2019) y Perellón-Alfonso *et al.* (2022) indicaron que las respuestas evocadas con EMT permitirían obtener información que sería más sensible a los cambios que ocurren durante el envejecimiento o debido a un estresor, y con los que se podría predecir variaciones en la cognición y la salud mental (174, 241). Además, combinar EMT y herramientas de electrofisiología cerebral podría evidenciar de forma más sensible los efectos de factores genéticos sobre la plasticidad cerebral asociada a funciones cognitivas (242), o en el caso de la epilepsia podría llegar a predecir mejor futuras crisis (243).

Estudiar tanto la respuesta cerebral a estímulos externos transitorios (pulsos EMT), como la valoración del desempeño cognitivo, nos ha permitido explorar diferentes enfoques de la salud cerebral, remarcando la importancia de su investigación en poblaciones sanas. En primer lugar, estos marcadores biológicos pueden ser esenciales para el desarrollo de intervenciones regulares para monitorear la salud cerebral como se hace en la medición del riesgo cardiovascular. En segundo lugar, estos resultados proporcionan evidencia adicional del papel de la corteza motora primaria y prefrontal izquierdas en las funciones cognitivas (223,244). De hecho, estas regiones podrían ser dos objetivos potenciales para futuras intervenciones cuya finalidad fuera hacer un seguimiento o manutención de la salud cerebral. Además, en el caso de que dichos marcadores estuvieran alterados, se podría plantear modular su actividad cerebral mediante EMT u otras herramientas de neuromodulación.

Limitaciones

El presente trabajo contiene algunas limitaciones que se deberían tener en cuenta en la interpretación de los resultados.

En primer lugar, el diseño de toda la investigación es de carácter transversal y correlacional. Esto impide determinar una relación causa-efecto entre las distintas medidas de excitabilidad e inhibición cortical y las funciones cognitivas exploradas. Además, las características de la muestra empleada han ido ligadas a los criterios de inclusión y exclusión del BBHI, el proyecto raíz de donde se han recogido los datos. Principalmente, estos criterios incluían no presentar una enfermedad neurológica y/o psiquiátrica y tener entre 40 y 65 años. Además, era necesario cumplir otros requisitos previos a la sesión de estimulación, como haber realizado una resonancia magnética para descartar hallazgos incidentales, no tener contraindicaciones, no abusar de sustancias tóxicas, no tomar medicamentos que afecten al SNC y no estar embarazada. Todo ello redujo el tamaño muestral (n1 = 97; n2 = 52), y aunque podría llegar a considerarse pequeño, se encuentra en línea con otros estudios centrados en asociar medidas EMT con la cognición (23,24,120). Otro aspecto a tener en cuenta fue el nivel educativo de los sujetos. El promedio fue

de 18 años de estudios, siendo mayor al de la población española, y existiendo poca representación de bajo nivel educativo. En cuanto a la edad y el género, ambos fueron proporcionales; no obstante, en el caso del segundo estudio, se estudió mayor cantidad de hombres que de mujeres, condicionando la investigación.

También existieron limitaciones específicas en cada estudio. En el primero, la falta de tiempo establecido en la prueba EMT solo permitió estudiar dos medidas de EMT-EEG (UM y LICI), que, aunque fueran de utilidad para medir la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical, limitaron los posibles resultados obtenidos. Por otro lado, en el segundo estudio el análisis estadístico fue hecho por cada punto de estimulación por separado debido a la falta de datos. Además, como se trataba de una muestra pequeña, no se realizó una corrección para comparaciones múltiples con el objetivo de mantener el poder estadístico y evitar aumentar considerablemente la probabilidad de errores tipo II. Por último, no se utilizó una capa de espuma entre la bobina y el gorro de electrodos. Aunque esta medida preventiva podría añadir distancia, incrementando el UM y variando el efecto entre sujetos (245), podría haber sido beneficioso para la reducción de los potenciales evocados auditivos en el análisis EEG.

7. CONCLUSIONES

- La inhibición intracortical motora izquierda se asocia de forma positiva con la memoria de trabajo en adultos sanos de mediana edad, relacionándose también con el razonamiento solo en hombres.
- La excitabilidad cortical de la corteza prefrontal izquierda medida mediante EMT-EEG se asocia con la memoria de trabajo y el razonamiento en adultos de mediana edad, independientemente del daño neuroaxonal, la edad, el género y el nivel educativo.
- La excitabilidad cortical frontal y la inhibición motora del hemisferio izquierdo, medidas mediante EMT, podrían ser dos posibles biomarcadores de buena cognición en adultos sanos de mediana edad.

8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

La inhibición intracortical motora (medida con LICI) y la respuesta local a la estimulación EMT en la corteza prefrontal (explorada con LMFP) son dos indicadores potenciales de salud cerebral en una muestra de personas de mediana edad cognitivamente sanas. Dado que las técnicas de estimulación no invasiva se utilizan cada vez más en la investigación y en la práctica clínica, estos resultados pueden ser útiles en ambos campos debido a su sensibilidad neurofisiológica. Sin embargo, es necesario profundizar en algunos aspectos.

En primer lugar, se recomienda validar estos marcadores no solo a nivel transversal sino también longitudinalmente, para explorar si la excitabilidad cortical puede predecir la función cognitiva. Por un lado, para caracterizar la normalidad en poblaciones sanas, se necesitan referencias que puedan percibir los primeros cambios cerebrales y detectar los mecanismos patológicos mucho antes de que aparezcan los síntomas. Por otro lado, en personas con patologías como trastornos neurológicos o psiquiátricos, se debe estudiar si existen variaciones en la predicción o incidencia de la patología, en base a estos marcadores. Esto requiere estudios que utilicen muestras más grandes y heterogéneas de adultos de mediana edad, así como grupos más mayores (>65 años), con y sin patologías, que consideren factores que pueden influir en la excitabilidad cortical, como el estado emocional, el sueño y el ciclo menstrual (relevante dados sus efectos sobre el cerebro femenino). Además, sería de utilidad incluir otros paradigmas de estimulación, como la inhibición intracortical de intervalo corto o la facilitación intracortical, así como pruebas neuropsicológicas que valoren la memoria de trabajo visoespacial, con diferentes niveles de carga cognitiva, y, dentro del proceso de manipulación, no solo el ordenamiento serial sino el procesamiento de actualización, como la tarea *N-back*.

En segundo lugar, se debe trabajar en protocolos de intervención temprana, de estimulación no invasiva, que permitan monitorear y revertir posibles cambios patológicos, impactando positivamente sobre la evolución a largo plazo de la salud cerebral y el deterioro cognitivo. Por esta razón, es necesario mejorar las técnicas utilizadas en estos estudios para que los métodos sean rápidos, eficientes, fáciles de usar y analizar.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística. INE. Esperanza de Vida al Nacimiento según sexo [Internet]. Instituto Nacional de Estadística. [citado el 2 de marzo de 2022]. Disponible en: https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=1414#!tabs-tabla

2. Ader I, Pénicaud L, Andrieu S, Beard JR, Davezac N, Dray C, et al. Healthy Aging Biomarkers: The INSPIRE's Contribution. J Frailty Aging. 2021;10(4):313–9.

3. Brown GC. Living too long: the current focus of medical research on increasing the quantity, rather than the quality, of life is damaging our health and harming the economy. EMBO rep. 2015;16(2):137–41.

4. Cattaneo G, Bartrés-Faz D, Morris TP, Sánchez JS, Macià D, Tarrero C, et al. The Barcelona Brain Health Initiative: A Cohort Study to Define and Promote Determinants of Brain Health. Frontiers in aging neu. 2018;10:321.

5. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. Curr Biol. 2012;22(17):R741-52.

6. GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet Public. 2022;7(2):e105-125.

7. Bartrés-Faz D, Cattaneo G, Solana J, Tormos JM, Pascual-Leone A. Meaning in life: resilience beyond reserve. Alzheimers Res thera. 2018;10(1):47.

8. Vinje HF, Langeland E, T. B. Aaron Antonovsky's Development of Salutogenesis, 1979–1994. En: Mittelmark MB, Bauer GF, Vaandrager L, Pelikan JM, Sagy S, Eriksson M, et al., editores. The Handbook of Salutogenesis. Springer; 2022.

9. Antonovsky A. The salutogenic model as a theory to guide health promotion,. Health Promotion International. 1996;11(1):11–8.

10. Bhattacharya S, Pradhan KB, Bashar MA, Tripathi S, Thiyagarajan A, Srivastava A, et al. Salutogenesis: A bona fide guide towards health preservation. J Family Med Prim Care. 2020;9(1):16–9.

11. Fries CJ. Healing Health Care: From Sick Care Towards Salutogenic Healing Systems. Soc Theory Health. 2020;18(1):16–32.

12. Wang Y, Pan Y, Li H. What is brain health and why is it important? BMJ. 2020;371:m3683.

13. Nyberg L, Lövdén M, Riklund K, Lindenberger U, Bäckman L. Memory aging and brain maintenance. Trends Cogn Sci. 2012;16(5):292–305.

14. Cattaneo G, Bartrés-Faz D, Morris TP, Solana SJ, Macià D, Tormos JM, et al. The Barcelona Brain Health Initiative: Cohort description and first follow-up. Plos One. 2020;15(2):e0228754.

15. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther. 2001;69(3):89–95.

16. Reiman EM, Quiroz YT, Fleisher AS, Chen K, Velez-Pardo C, Jimenez-Del-Rio M, et al. Brain imaging and fluid biomarker analysis in young adults at genetic risk for autosomal

dominant Alzheimer's disease in the presenilin 1 E280A kindred: a case-control study. Lancet Neurol. 2012;11(12):1048–56.

17. Beason-Held LL, Goh JO, An Y, Kraut MA, O'Brien RJ, Ferrucci L, et al. Changes in brain function occur years before the onset of cognitive impairment. J Neurosci. 2013;33(46):18008–14.

18. Ilmoniemi RJ, Kičić D. Methodology for combined TMS and EEG. Brain Topogr. 2010;22(4):233–48.

19. Rossini PM, Burke D, Chen R, Cohen LG, Daskalakis Z, Di Iorio R, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application: An updated report from an I.F.C.N. Committee. Clinical Neurophysiology. 2015;126(6):1071–107.

20. Pascual-Leone A, Tormos JM, Keenan J, Tarazona F, Cañete C, Catalá. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. J Clin Neurophysiol. 1998;15(4):333–43.

21. Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. Lancet Neurol. 2003;2(3):145–56.

22. Cespón J, Pellicciari MC, Casula EP, Miniussi C. Age-related Changes in Cortical Excitability Linked to Decreased Attentional and Inhibitory Control. Neuroscience. 2022;495:1–14.

23. Bolden LB, Griffis JC, Pati S, Szaflarski JP. Cortical excitability and neuropsychological functioning in healthy adults. Neuropsychologia. 2017;102:190–6.

24. Akilan K, Kumar S, Zomorrodi R, Blumberger DM, Daskalakis ZJ, Rajji TK. Gender impact on transcranial magnetic stimulation-based cortical excitability and cognition relationship in healthy individuals. Neuroreport. 2020;31(4):287–92.

25. PáscoaDosSantos F, Verschure P. Excitatory-Inhibitory Homeostasis and Diaschisis: Tying the Local and Global Scales in the Post-stroke Cortex. Front Syst Neurosci. 2022;15:806544.

26. Dehghani N, Peyrache A, Telenczuk B, Van Quyen M L, Halgren E, Cash SS, et al. Dynamic balance of excitation and inhibition in human and monkey neocortex. Sci Rep. 2016;6:23176.

27. Sohal VS, Rubenstein JLR. Excitation-inhibition balance as a framework for investigating mechanisms in neuropsychiatric disorders. Mol Psychiatry. 2019;24(9):1248–57.

28. Bruining H, Hardstone R, Juarez-Martinez EL, Sprengers J, Avramiea AE, Simpraga S, et al. Measurement of excitation-inhibition ratio in autism spectrum disorder using critical brain dynamics. Sci Rep. 2020;10(1):9195.

29. Calvin OL, Redish AD. Global disruption in excitation-inhibition balance can cause localized network dysfunction and Schizophrenia-like context-integration deficits. PLoS Comput Biol. 2021;17(5):e1008985.

30. Maestú F, de Haan W, Busche MA, DeFelipe J. Neuronal excitation/inhibition imbalance: core element of a translational perspective on Alzheimer pathophysiology. Ageing Res Rev. 2021;69:101372.

31. Zadey S, Buss SS, McDonald K, Press DZ, Pascual-Leone A, Fried PJ. Higher motor cortical excitability linked to greater cognitive dysfunction in Alzheimer's disease: results from two independent cohorts. Neurobiol Aging. 2021;108:24–33.

32. Thau L, Reddy V, Singh P. Anatomy, Central Nervous System. StatPearls Publishing; 2022.

33. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science (4a ed.). McGraw-Hill, Health Professions Division; 2000.

34. Purves D. Neurociencia (5a ed.). Panamericana; 2016.

35. Tortora GJ, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología. Editorial Medica Panamericana Sa; 2006.

36. Schmidt-Wilcke T, Fuchs E, Funke K, Vlachos A, Müller-Dahlhaus F, Puts NAJ, et al. GABA-from Inhibition to Cognition: Emerging Concepts. Neuroscientist. 2018;24(5):501–15.

37. Cao G, Edden RAE, Gao F, Li H, Gong T, Chen W, et al. Reduced GABA levels correlate with cognitive impairment in patients with relapsing- remitting multiple sclerosis. Eur Radiol. 2018;28(3):1140–8.

38. Jewett BE, Sharma S. Physiology, GABA. 2022: StatPearls Publishing; 2022.

39. Hosoya T. The basic repeating modules of the cerebral cortical circuit. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2019;95(7):303–11.

40. Komssi S, Kähkönen S. The novelty value of the combined use of electroencephalography and transcranial magnetic stimulation for neuroscience research. Brain Res Rev. 2006;52(1):183–92.

41. Keogh R, Bergmann J, Pearson J. Cortical excitability controls the strength of mental imagery. Elife. 2020;9:e50232.

42. He HY, Cline HT. What Is Excitation/Inhibition and How Is It Regulated? A Case of the Elephant and the Wisemen. J Exp Neurosci. 2019;13:1179069519859371.

43. Cline H. Synaptogenesis: A Balancing Act between Excitation and Inhibition. Current Biology. 29 de marzo de 2005;15(6):R203-5.

44. Sukenik N, Vinogradov O, Weinreb E, Segal M, Levina A, Moses E. Neuronal circuits overcome imbalance in excitation and inhibition by adjusting connection numbers. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021;118(12):e2018459118.

45. Cao KX, Ma ML, Wang CZ, Iqbal J, Si JJ, Xue YX, et al. TMS-EEG: An emerging tool to study the neurophysiologic biomarkers of psychiatric disorders. Neuropharmacology. 2021;1(197):108574.

46. Luscher B, Shen Q, N. S. he GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. Mol Psychiatry. 2011;16(4):383–406.

47. Lissemore JI, Bhandari A, Mulsant BH, Lenze EJ, Reynolds CF, Karp JF, et al. Reduced GABAergic cortical inhibition in aging and depression. Neuropsychopharmacology. 2018;43(11):2277–84.

48. Overbeek G, Gawne TJ, Reid MA, Salibi N, Kraguljac NV, White DM, et al. Relationship Between Cortical Excitation and Inhibition and Task-Induced Activation and Deactivation: A Combined Magnetic Resonance Spectroscopy and Functional Magnetic Resonance Imaging Study at 7T in First-Episode Psychosis. Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging. 2019;4(2):121–30.

49. Masuda F, Nakajima S, Miyazaki T, Yoshida K, Tsugawa S, Wada M, et al. Motor cortex excitability and inhibitory imbalance in autism spectrum disorder assessed with transcranial magnetic stimulation: a systematic review. Transl Psychiatry. 2019;9(1):110.

50. Kang JI, Kim DY, Lee CI, Kim CH, Kim SJ. Changes of motor cortical excitability and response inhibition in patients with obsessive–compulsive disorder. J Psychiatry Neurosci. 2019;44(4):261–8.

51. Joseph S, Patterson R, Wang W, Blumberger DM, Rajji T, Kumar S. Quantitative Assessment of Cortical Excitability in Alzheimer's Dementia and Its Association with Clinical Symptoms: A Systematic Review and Meta-Analyses. J Alzheimers Dis. 2022;88(3):867–91.

52. Mimura Y, Nishida H, Nakajima S, Tsugawa S, Morita S, Yoshida K, et al. Neurophysiological biomarkers using transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev. 2021;121:47–59.

53. Khedr EM, Ahmed MA, Darwish ES, Ali AM. The relationship between motor cortex excitability and severity of Alzheimer's disease: a transcranial magnetic stimulation study. Neurophysiol Clin. 2011;41(3):107–13.

54. Pennisi G, Ferri R, Lanza G, Cantone M, Pennisi M, Puglisi V, et al. Transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease: a neurophysiological marker of cortical hyperexcitability. J Neural Transm (Vienna). 2011;118(4):587–98.

55. Meder A, Liepelt-Scarfone I, Sulzer P, Berg D, Laske C, Preische O, et al. Motor cortical excitability and paired-associative stimulation-induced plasticity in amnestic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Clin Neurophysiol. 2021;132(9):2264–73.

56. Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Marra C, et al. Motor cortex hyperexcitability to transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004;75(4):555–9.

57. Sele S, Liem F, Mérillat S, Jäncke L. Age-related decline in the brain: a longitudinal study on inter-individual variability of cortical thickness, area, volume, and cognition. Neuroimage. 2021;240(118370):118370.

58. Salat DH, Buckner RL, Snyder AZ, Greve DN, Desikan RSR, Busa E, et al. Thinning of the cerebral cortex in aging. Cereb Cortex. 2004;14(7):721–30.

59. Toepper M. Dissociating normal aging from Alzheimer's disease: A view from cognitive neuroscience. J Alzheimers Dis. 2017;57(2):331–52.

60. List J, Kübke JC, Lindenberg R, Külzow N, Kerti L, Witte V, et al. Relationship between excitability, plasticity and thickness of the motor cortex in older adults. Neuroimage. 2013;83:809–16.

61. McGinley M, Hoffman RL, Russ DW, Thomas JS, Clark BC. Older adults exhibit more intracortical inhibition and less intracortical facilitation than young adults. Exp Gerontol. 2010;45(9):671–8

62. Opie GM, Semmler JG. Age-related differences in short- and long-interval intracortical inhibition in a human hand muscle. Brain Stimul. 2014;7(5):665–72.

63. Hermans L, Levin O, Maes C, van Ruitenbeek P, Heise K-F, Edden RAE, et al. GABA levels and measures of intracortical and interhemispheric excitability in healthy young and older adults: an MRS-TMS study. Neurobiol Aging. 2018;65:168–77.

64. Guerra A, Rocchi L, Grego A, Berardi F, Luisi C, Ferreri F. Contribution of TMS and TMS-EEG to the understanding of mechanisms underlying physiological brain aging. Brain Sci. 2021;11(3):405.

65. Van Egroo M. Brainstem tau protein burden is associated with cortical hyper-excitability in healthy aging: Neuroimaging / Optimal neuroimaging measures for early detection. Alzheimers Dement. 2020;16(S5).

66. Gisslén M, Price RW, Andreasson U, Norgren N, Nilsson S, Hagberg L, et al. Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of CNS injury in HIV infection: A cross-sectional study. EBioMedicine. 2016;3:135–40.

67. Hu H, Chen K-L, Ou Y-N, Cao X-P, Chen S-D, Cui M, et al. Neurofilament light chain plasma concentration predicts neurodegeneration and clinical progression in nondemented elderly adults. Aging (Albany NY). 2019;11(17):6904–14.

68. Beydoun MA, Noren Hooten N, Beydoun HA, Maldonado AI, Weiss J, Evans MK, et al. Plasma neurofilament light as a potential biomarker for cognitive decline in a longitudinal study of middle-aged urban adults. Transl Psychiatry. 2021;11(1):436.

69. Korzhyk O, Morenko O, Morenko A, Kotsan I. Gender differences in brain processes during inhibition of manual movements programs. Ann Neurosci. 2019;26(1):4–9.

70. Rezzani R, Franco C, Rodella LF. Sex differences of brain and their implications for personalized therapy. Pharmacol Res. 2019;141:429–42.

71. Travica N, Ried K, Hudson I, Sali A, Scholey A, Pipingas A. Gender differences in plasma vitamin C concentrations and cognitive function: A pilot cross-sectional study in healthy adults. Curr Dev Nutr. 2020;4(4):nzaa038.

72. Cosgrove KP, Mazure CM, Staley JK. Evolving knowledge of sex differences in brain structure, function, and chemistry. Biol Psychiatry. 2007;62(8):847–55.

73. Minzenberg MJ, Leuchter AF. The effect of psychotropic drugs on cortical excitability and plasticity measured with transcranial magnetic stimulation: Implications for psychiatric treatment. J Affect Disord. 2019;253:126–40.

74. Rossi S, Antal A, Bestmann S, Bikson M, Brewer C, Brockmöller J, et al. Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: Expert Guidelines. Clin Neurophysiol. 2021;132(1):269–306.

75. Zulkifly MFM, Merkohitaj O, Paulus W, Brockmöller J. The roles of caffeine and corticosteroids in modulating cortical excitability after paired associative stimulation (PAS) and transcranial alternating current stimulation (tACS) in caffeine-naïve and caffeine-adapted subjects. Psychoneuroendocrinology. 2021;127(105201):105201.

76. Kähkönen S, Wilenius J, Nikulin VV, Ollikainen M, Ilmoniemi RJ. Alcohol reduces prefrontal cortical excitability in humans: a combined TMS and EEG study. Neuropsychopharmacology. 2003;28(4):747–54.

77. Khedr EM, Tony AA, Abdelwarith A, Safwat M. Effect of chronic nicotine consumption on motor cortical excitability: A transcranial magnetic stimulation study. Neurophysiol Clin. 2020;50(1):33–9.

78. Hajdusianek W, Żórawik A, Waliszewska-Prosół M, Poręba R, Gać P. Tobacco and nervous system development and function-new findings 2015-2020. Brain Sci. 2021;11(6):797.

79. Rotenberg A, Horvath JC, Pascual-Leone A, editores. Transcranial magnetic stimulation. 2014a ed. Totowa, NJ, Estados Unidos de América: Springer; 2014.

80. Beléndez A. La unificación de luz, electricidad y magnetismo: la "síntesis electromagnética" de Maxwell. Rev Bras Ensino Fís. 2008;30(2):2601.1-2601.20.

81. Chatterjee S. Michael Faraday: Discovery of electromagnetic induction. Reson. 2002;7(3):35–45.

82. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. Lancet. 1985;325(8437):1106–7.

83. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. Clin Neurophysiol. 2009;120(12):2008–39.

84. Merton PA, Morton HB, Hill DK, Marsden CD. Scope of a technique for electrical stimulation of human brain, spinal cord, and muscle. Lancet. 1982;320(8298):597–600.

85. Blumberger DM, Vila-Rodriguez F, Thorpe KE, Feffer K, Noda Y, Giacobbe P, et al. Effectiveness of theta burst versus high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with depression (THREE-D): a randomised non-inferiority trial. Lancet. 2018;391(10131):1683–92.

86. Lan L, Zhang X, Li X, Rong X, Peng Y. The efficacy of transcranial magnetic stimulation on migraine: a meta-analysis of randomized controlled trails. J Headache Pain. 2017;18(1).

87. Trevizol AP, Shiozawa P, Cook IA, Sato IA, Kaku CB, Guimarães FBS, et al. Transcranial magnetic stimulation for obsessive-compulsive disorder: An updated systematic review and meta-analysis. J ECT. 2016;32(4):262–6.

88. Catalá de Alemany J. Física General (6a ed.). SABER; 1974.

89. Wassermann E, Epstein C, Ziemann U, Walsh V, Paus T, Lisanby SH, editores. Oxford Handbook of Transcranial Stimulation. Londres, Inglaterra: Oxford University Press; 2007.

90. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation: a primer. Neuron. 2007;55(2):187–99.

91. Maccabee PJ, Amassian VE, Eberle LP, Cracco RQ. Magnetic coil stimulation of straight and bent amphibian and mammalian peripheral nerve in vitro: locus of excitation. J Physiol. 1993;460(1):201–19.

92. Rossini PM, Rossini L, Ferreri F. Brain-behavior relations: transcranial magnetic stimulation: a review. IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine. 2010;29(1):84–95.

93. Zewdie E, Kirton A. TMS Basics. En: Pediatric Brain Stimulation. Elsevier; 2016. p. 3–22.

94. Griskova I, Höppner J, Ruksenas O, Dapsys K. Transcranial magnetic stimulation: the method and application. Medicina (Kaunas). 2006;42(10):798–804.

95. Malavera M, Silva F, García R, Rueda L, Carrillo S. Fundamentos y aplicaciones clínicas de la estimulación magnética transcraneal en neuropsiquiatría. Rev Colomb Psiquiatr. 2014;43(1):32–9.

96. Groppa S, Oliviero A, Eisen A, Quartarone A, Cohen LG, Mall V, et al. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. Clin Neurophysiol. 2012;123(5):858–82.

97. Gomez-Tames J, Hamasaka A, Laakso I, Hirata A, Ugawa Y. Atlas of optimal coil orientation and position for TMS: A computational study. Brain Stimul. 2018;11(4):839–48.

98. Bertazzoli G, Esposito R, Mutanen TP, Ferrari C, Ilmoniemi RJ, Miniussi C, et al. The impact of artifact removal approaches on TMS-EEG signal. Neuroimage. 2021;239:118272.

99. Gordon PC, Desideri D, Belardinelli P, Zrenner C, Ziemann U. Comparison of cortical EEG responses to realistic sham versus real TMS of human motor cortex. Brain Stimul. 2018;11(6):1322–30.

100. Tremblay S, Rogasch NC, Premoli I, Blumberger DM, Casarotto S, Chen R, et al. Clinical utility and prospective of TMS-EEG. Clin Neurophysiol. 2019;130(5):802–44.

101. Hallett M, Chokroverty S. Magnetic Stimulation in Clinical Neurophysiology. 2a ed. Oxford, Inglaterra: Butterworth-Heinemann; 2004.

102. McDonnell MN, Orekhov Y, Ziemann U. The role of GABAB receptors in intracortical inhibition in the human motor cortex. Exp Brain Res. 2006;173(1):86–93.

103. Opie GM, Rogasch NC, Goldsworthy MR, Ridding MC, Semmler JG. Investigating TMS–EEG indices of long-interval intracortical inhibition at different interstimulus intervals. Brain Stimul. 2017;10(1):65–74.

104. Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Wassermann EM, Hallett M. Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1992;85(6):355–64.

105. Nakamura H, Kitagawa H, Kawaguchi Y, Tsuji H. Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. J Physiol. 1997;498(3):817–23.

106. Edwards DJ, Fried PJ, Davila-Pérez P, Horvath JC, Rotenberg A, Pascual-Leone A. A Practical Manual for Transcranial Magnetic Stimulation. 2016.

107. Klem GH, Lüders HO, Jasper HH, Elger C. The ten-twenty electrode system of the International Federation. The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl. 1999;52:3–6.

108. Rich TL, Menk JS, Rudser KD, Chen M, Meekins GD, Peña E, et al. Determining electrode placement for transcranial direct current stimulation: A comparison of EEG- versus TMS-guided methods. Clin EEG Neurosci. 2017;48(6):367–75.

109. Beam W, Borckardt JJ, Reeves ST, George MS. An efficient and accurate new method for locating the F3 position for prefrontal TMS applications. Brain Stimul. 2009;2(1):50–4.

110. Sack AT, Cohen Kadosh R, Schuhmann T, Moerel M, Walsh V, Goebel R. Optimizing functional accuracy of TMS in cognitive studies: a comparison of methods. J Cogn Neurosci. 2009;21(2):207–21.

111. Gugino LD, Romero JR, Aglio L, Titone D, Ramirez M, Pascual-Leone A, et al. Transcranial magnetic stimulation coregistered with MRI: a comparison of a guided versus blind stimulation technique and its effect on evoked compound muscle action potentials. Clin Neurophysiol. 2001;112(10):1781–92.

112. Yeo BTT, Krienen FM, Sepulcre J, Sabuncu MR, Lashkari D, Hollinshead M, et al. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. J Neurophysiol. 2011;106(3):1125–65.

113. Ferreri F, Rossini PM. TMS and TMS-EEG techniques in the study of the excitability, connectivity, and plasticity of the human motor cortex. Rev Neurosci. 2013;24(4):431–42.

114. Farzan F, Vernet M, Shafi MMD, Rotenberg A, Daskalakis ZJ, Pascual-Leone A. Characterizing and modulating brain circuitry through transcranial magnetic stimulation combined with electroencephalography. Front Neural Circuits. 2016;10:73.

115. Fatih P, Kucuker MU, Vande Voort JL, Doruk Camsari D, Farzan F, Croarkin PE. A systematic review of long-interval intracortical inhibition as a biomarker in neuropsychiatric disorders. Front Psychiatry. 2021;12:678088.

116. Versace V, Sebastianelli L, Ferrazzoli D, Romanello R, Ortelli P, Saltuari L, et al. Intracortical GABAergic dysfunction in patients with fatigue and dysexecutive syndrome after COVID-19. Clin Neurophysiol. 2021;132(5):1138–43.

117. Schicktanz N, Schwegler K, Fastenrath M, Spalek K, Milnik A, Papassotiropoulos A, et al. Motor threshold predicts working memory performance in healthy humans. Ann Clin Transl Neurol. 2014;1(1):69–73.

118. Cracco RQ, Amassian VE, Maccabee PJ, Cracco JB. Comparison of human transcallosal responses evoked by magnetic coil and electrical stimulation. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1989;74(6):417–24.

119. Pascual-Leone A, Freitas C, Oberman L, Horvath JC, Halko M, Eldaief M, et al. Characterizing brain cortical plasticity and network dynamics across the age-span in health and disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. Brain Topogr. 2011;24(3–4):302–15.

120. Ozdemir RA, Tadayon E, Boucher P, Momi D, Karakhanyan KA, Fox MD, et al. Individualized perturbation of the human connectome reveals reproducible biomarkers of network dynamics relevant to cognition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020;117(14):8115–25.

121. Ilmoniemi RJ, Karhu J. TMS and electroencephalography: methods and current advances. Epstein CM, Wassermann EM, Ziemann U, editores. Oxford University Press; 2012.

122. Hallett M, Di Iorio R, Rossini PM, Park JE, Chen R, Celnik P, et al. Contribution of transcranial magnetic stimulation to assessment of brain connectivity and networks. Clin Neurophysiol. 2017;128(11):2125–39.

123. Tatum WO. Handbook of EEG interpretation. Tatum WO IV, editor. Nueva York, NY, Estados Unidos de América: Demos Medical Publishing; 2014.

124. Casula EP, Rocchi L, Hannah R, Rothwell JC. Effects of pulse width, waveform and current direction in the cortex: A combined cTMS-EEG study. Brain Stimul. 2018; 11(5):1063-70.

125. Lehmann D, Skrandies W. Reference-free identification of components of checkerboard-evoked multichannel potential fields. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1980;48(6):609–21.

126. Skrandies W. Global field power and topographic similarity. Brain Topogr. Fall 1990;3(1):137–41.

127. Romero Lauro LJ, Rosanova M, Mattavelli G, Convento S, Pisoni A, Opitz A, et al. TDCS increases cortical excitability: direct evidence from TMS-EEG. Cortex. 2014;58:99–111.

128. Casarotto S, Romero Lauro LJ, Bellina V, Casali AG, Rosanova M, Pigorini A, et al. EEG responses to TMS are sensitive to changes in the perturbation parameters and repeatable over time. PLoS One. 2010;5(4):e10281.

129. Pisoni A, Mattavelli G, Papagno C, Rosanova M, Casali AG, Romero Lauro LJ. Cognitive enhancement induced by anodal tDCS drives circuit-specific cortical plasticity. Cereb Cortex. 2018;28(4):1132–40.

130. Ozdemir RA, Boucher P, Fried PJ, Momi D, Jannati A, Pascual-Leone A, et al. Reproducibility of cortical response modulation induced by intermittent and continuous theta-burst stimulation of the human motor cortex. Brain Stimul. 2021;14(4):949–64.

131. Voineskos D, Blumberger DM, Zomorrodi R, Rogasch NC, Farzan F, Foussias G, et al. Altered transcranial magnetic stimulation-electroencephalographic markers of inhibition and excitation in the dorsolateral prefrontal cortex in major depressive disorder. Biol Psychiatry. 2019;85(6):477–86.

132. Purves D, Brannon E, Cabeza R, Huettel SA, Labar K, Platt ML, et al. Principles of Cognitive Neuroscience. Sunderland, MA, Estados Unidos de América: Sinauer Associates; 2008.

133. Lezak MD, Howieson DB, Loring DW, Hannay HJ, Fischer JS. Neuropsychological Assessment. 4a ed. Nueva York, NY, Estados Unidos de América: Oxford University Press; 2004.

134. Van Essen DC, Donahue CJ, Glasser MF. Development and evolution of cerebral and cerebellar cortex. Brain Behav Evol. 2018;91(3):158–69.

135. Harvey PD. Domains of cognition and their assessment. Dialogues Clin Neurosci. 2019;21(3):227–37.

136. Fuster J. The Prefrontal Cortex. 4a ed. Fuster J, editor. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Academic Press; 2008.

137. Portellano. Introduccion a la neuropsicologia. McGraw-Hill Interamericana; 2006.

138. Murman DL. The impact of age on cognition. Semin Hear. 2015;36(3):111–21.

139. Sohlberg MM, Mateer CA. Effectiveness of an attention-training program. J Clin Exp Neuropsychol. 1987;9(2):117–30.

140. Kail R, Salthouse TA. Processing speed as a mental capacity. Acta Psychol (Amst). 1994;86(2–3):199–225.

141. Ustárroz J, García-Molina A, Rios Lago M, Ardila A. Neuropsicología de la corteza prefrontal y las funciones ejecutivas. VIGUERA; 2012.

142. Marino J, Arias JC, Abusamra V, Foa TG, Kozina Z. Velocidad de procesamiento de la información en pruebas neuropsicológicas clásicas. Neuropsicología Latinoamericana,. 2019;11(3):15–22.

143. Eckert MA, Keren NI, Roberts DR, Calhoun VD, Harris KC. Age-related changes in processing speed: unique contributions of cerebellar and prefrontal cortex. Front Hum Neurosci. 2010;4:10.

.

144. Lakhani B, Bolton DAE, Miyasike-Dasilva V, Vette AH, McIlroy WE. Speed of processing in the primary motor cortex: a continuous theta burst stimulation study. Behav Brain Res. 2014;261:177–84.

145. Reitan RM, Wolfson D. The Halstead-reitan neuropsychological test battery: Theory and clinical interpretation. Reitan Neuropsychology; 1985.

146. Peña-Casanova J, Casals-Coll M, Quintana M, Sánchez-Benavides G, Rognoni T, Calvo L, et al. Estudios normativos españoles en población adulta joven (Proyecto NEURONORMA jóvenes): métodos y características de la muestra. Neurologia. 2012;27(5):253–60.

147. Wechsler D. WAIS-IV. Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-IV. En: En: Manual De Aplicación Y Corrección. NCS Pearson, Inc.; 2012.

148. Diamond A. Executive functions. Annu Rev Psychol. 2013;64(1):135–68.

149. Magnusson KR, Brim BL. The aging brain. En: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2014.

150. Baddeley A. Working memory. Science. 1992;255(5044):556–9.

151. Baddeley A. The episodic buffer: a new component of working memory? Trends Cogn Sci. 2000;4(11):417–23.

152. Klencklen G, Banta Lavenex P, Brandner C, Lavenex P. Working memory decline in normal aging: Memory load and representational demands affect performance. Learn Motiv. 2017;60:10–22.

153. Brodziak A, Brewczyński A, Bajor G. Clinical significance of knowledge about the structure, function, and impairments of working memory. Med Sci Monit. 2013;19:327–38.

154. Mansouri FA, Rosa MGP, Atapour N. Working memory in the service of executive control functions. Front Syst Neurosci. 2015;9.

155. Hambrick DZ, Engle RW. The role of working memory in problem solving. En: Davidson JE, Sternberg RJ, editores. The Psychology of Problem Solving. Cambridge: Cambridge University Press; 2003. p. 176–206.

156. Wiley J, Jarosz AF. How working memory capacity affects problem solving. En: Psychology of Learning and Motivation. Elsevier; 2012. p. 185–227.

157. Chai WJ, Abd Hamid AI, Abdullah JM. Working memory from the psychological and neurosciences perspectives: A review. Front Psychol. 2018;9.

158. Ghaleh M, Lacey EH, Fama ME, Anbari Z, DeMarco AT, Turkeltaub PE. Dissociable mechanisms of verbal working memory revealed through multivariate lesion mapping. Cereb Cortex. 2020;30(4):2542–54.

159. Cochrane A, Simmering V, Green CS. Fluid intelligence is related to capacity in memory as well as attention: Evidence from middle childhood and adulthood. PLoS One. 2019;14(8):e0221353.

160. Fukuda K, Vogel E, Mayr U, Awh E. Quantity, not quality: the relationship between fluid intelligence and working memory capacity. Psychon Bull Rev. 2010;17(5):673–9.

161. Bugg JM, Zook NA, DeLosh EL, Davalos DB, Davis HP. Age differences in fluid intelligence: contributions of general slowing and frontal decline. Brain Cogn. 2006;62(1):9–16.

162. Shiffrin RM, Atkinson RC. Storage and retrieval processes in long-term memory. Psychol Rev. 1969;76(2):179–93.

163. Tulving E. Episodic and semantic memory. En: Organization of memory. Academic press; 1972.

164. Tulving E. Episodic memory: from mind to brain. Annu Rev Psychol. 2002;53(1):1–25

165. Ferbinteanu J, Kennedy PJ, Shapiro ML. Episodic memory—From brain to mind. Hippocampus. 2006;16(9):691–703.

166. Dickerson BC, Eichenbaum H. The episodic memory system: neurocircuitry and disorders. Neuropsychopharmacology. 2010;35(1):86–104.

167. Wagnon CC, Wehrmann K, Klöppel S, Peter J. Incidental learning: A systematic review of its effect on episodic memory performance in older age. Front Aging Neurosci. 2019;11:173.

168. Cansino S. Episodic memory decay along the adult lifespan: a review of behavioral and neurophysiological evidence. Int J Psychophysiol. 2009;71(1):64–9.

169. Schmidt M. Rey Auditory verbal learning test: A handbook. Western Psychological Services; 1996.

170. Alviarez-Schulze V, Cattaneo G, Pachón-García C, Solana-Sánchez J, Tormos JM, Pascual-Leone A, et al. Validation and normative data of the Spanish version of the Rey Auditory Verbal Learning Test and associated long-term forgetting measures in middle-aged adults. Front Aging Neurosci. 2022;14:809019.

171. Alegret M, Valero S, Ortega G, Espinosa A, Sanabria A, Hernández I, et al. Validation of the Spanish version of the Face Name Associative Memory Exam (S-FNAME) in cognitively normal older individuals. Arch Clin Neuropsychol. 2015;30(7):712–20.

172. Alviarez-Schulze V, Cattaneo G, Pachón-García C, Solana-Sánchez J, Tormos-Muñoz JM, Alegret M, et al. Validation and normative data of the Spanish version of the Face Name Associative Memory Exam (S-FNAME). J Int Neuropsychol Soc. 2022;28(1):74–84.

173. Wu T, Chen C, Spagna A, Wu X, Mackie M-A, Russell-Giller S, et al. The functional anatomy of cognitive control: A domain-general brain network for uncertainty processing. J Comp Neurol. 2020;528(8):1265–92.

174. Perellón-Alfonso R, Redondo-Camós M, Abellaneda-Pérez K, Cattaneo G, Delgado-Gallén S, España-Irla G, et al. Prefrontal reactivity to TMS perturbation as a toy model of mental health outcomes during the COVID-19 pandemic. Heliyon. 2022;8(8):e10208.

175. Fuster JM. The prefrontal cortex—an update. Neuron. 2001;30(2):319–33.

176. A Breukelaar I, Williams LM, Antees C, Grieve SM, Foster SL, Gomes L, et al. Cognitive ability is associated with changes in the functional organization of the cognitive control brain network. Hum Brain Mapp. 2018;39(12):5028–38.

177. Miller EK. The prefrontal cortex and cognitive control. Nat Rev Neurosci. 2000;1(1):59–65.

178. Morcom AM, Henson RNA. Increased prefrontal activity with aging reflects nonspecific neural responses rather than compensation. J Neurosci. 2018;38(33):7303–13.

179. Vidal-Piñeiro D, Sneve MH, Nyberg LH, Mowinckel AM, Sederevicius D, Walhovd KB, et al. Maintained frontal activity underlies high memory function over 8 years in aging. Cereb Cortex. 2019;29(7):3111–23.

180. Eyler LT, Sherzai A, Kaup AR, Jeste DV. A review of functional brain imaging correlates of successful cognitive aging. Biol Psychiatry. 2011;70(2):115–22.

181. Fernandez-Ruiz J, Peltsch A, Alahyane N, Brien DC, Coe BC, Garcia A, et al. Age related prefrontal compensatory mechanisms for inhibitory control in the antisaccade task. Neuroimage. 2018;165:92–101.

182. Goldman-Rakic PS, Bates JF, Chafee MV. The prefrontal cortex and internally generated motor acts. Curr Opin Neurobiol. 1992;2(6):830–5.

183. Cao N, Pi Y, Qiu F, Wang Y, Xia X, Liu Y, et al. Plasticity changes in dorsolateral prefrontal cortex associated with procedural sequence learning are hemisphere-specific. Neuroimage. 2022;259(119406):119406.

184. Narayanan NS, Laubach M. Top-down control of motor cortex ensembles by dorsomedial prefrontal cortex. Neuron. 2006;52(5):921–31.

185. Marvel CL, Morgan OP, Kronemer SI. How the motor system integrates with working memory. Neurosci Biobehav Rev. 2019;102:184–94.

186. Liao DA, Kronemer SI, Yau JM, Desmond JE, Marvel CL. Motor system contributions to verbal and non-verbal working memory. Front Hum Neurosci. 2014;8:753.

187. Salehinejad MA, Wischnewski M, Ghanavati E, Mosayebi-Samani M, Kuo M-F, Nitsche MA. Cognitive functions and underlying parameters of human brain physiology are associated with chronotype. Nat Commun. 2021;12(1):4672.

188. Gaggioni G, Ly JQM, Muto V, Chellappa SL, Jaspar M, Meyer C, et al. Age-related decrease in cortical excitability circadian variations during sleep loss and its links with cognition. Neurobiol Aging. 2019;78:52–63.

189. Freeman SM, Itthipuripat S, Aron AR. High working memory load increases intracortical inhibition in primary motor cortex and diminishes the motor affordance effect. J Neurosci. 2016;36(20):5544–55.

190. Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Junqué C, Clemente IC, Molinuevo JL, Bargalló N, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation effects on brain function and cognition

among elders with memory dysfunction. A randomized sham-controlled study. Cereb Cortex. 2006;16(10):1487–93.

191. Cui X, Ren W, Zheng Z, Li J. Repetitive transcranial magnetic stimulation improved source memory and modulated recollection-based retrieval in healthy older adults. Front Psychol. 2020; 11:1137.

192. Cabeza R, Albert M, Belleville S, Craik FIM, Duarte A, Grady CL, et al. Maintenance, reserve and compensation: the cognitive neuroscience of healthy ageing. Nat Rev Neurosci. 2018;19(11):701–10.

193. Chou Y-H, Sundman M, Ton That V, Green J, Trapani C. Cortical excitability and plasticity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis of transcranial magnetic stimulation studies. Ageing Res Rev. 2022;79(101660):101660.

194. Willis SL, Martin M, Rocke C. Longitudinal perspectives on midlife development: stability and change. Eur J Ageing. 2010;7(3):131–4.

195. Lachman ME. Mind the gap in the middle: A call to study midlife. Res Hum Dev. 2015;12(3–4):327–34.

196. Vlachou S. GABAB receptors and cognitive processing in health and disease. Curr Top Behav Neurosci. 2022;52:291–329.

197. Pisoni A, Romero Lauro LJ, Vergallito A, Maddaluno O, Bolognini N. Cortical dynamics underpinning the self-other distinction of touch: A TMS-EEG study. Neuroimage. 2018;178:475–84.

198. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. Neuropsychologia. 1971;9(1):97–113.

199. Veale JF. Edinburgh Handedness Inventory - Short Form: a revised version based on confirmatory factor analysis. Laterality. 2014;19(2):164–77.

200. Bates JF, Goldman-Rakic PS. Prefrontal connections of medial motor areas in the rhesus monkey. J Comp Neurol. 1993;336(2):211–28.

201. Hasan A, Galea JM, Casula EP, Falkai P, Bestmann S, Rothwell JC. Muscle and timing-specific functional connectivity between the dorsolateral prefrontal cortex and the primary motor cortex. J Cogn Neurosci. 2013;25(4):558–70.

202. Salat DH, Kaye JA, Janowsky JS. Selective preservation and degeneration within the prefrontal cortex in aging and Alzheimer disease. Arch Neurol. 2001;58(9):1403–8.

203. Peters R. Ageing and the brain. Postgrad Med J. 2006;82(964):84–8.

204. Noda Y, Zomorrodi R, Cash RFH, Barr MS, Farzan F, Rajji TK, et al. Characterization of the influence of age on GABAA and glutamatergic mediated functions in the dorsolateral prefrontal cortex using paired-pulse TMS-EEG. Aging (Albany NY). 2017;9(2):556–72.

205. Mendoza G, Merchant H. Motor system evolution and the emergence of high cognitive functions. Prog Neurobiol. 2014;122:73–93.

206. Leisman G, Moustafa AA, Shafir T. Thinking, walking, talking: Integratory motor and cognitive brain function. Front Public Health. 2016;4:94.

207. Carruthers P. Evolution of working memory. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(Suppl 2):10371–8.

208. Bhattacharjee S, Kashyap R, Abualait T, Annabel Chen S-H, Yoo W-K, Bashir S. The role of primary motor cortex: More than movement execution. J Mot Behav. 2021;53(2):258–74.

209. Van Bussel FCG, Backes WH, Hofman PAM, Puts NAJ, Edden RAE, van Boxtel MPJ, et al. Increased GABA concentrations in type 2 diabetes mellitus are related to lower cognitive functioning. Medicine (Baltimore). 2016;95(36):e4803.

210. Reddy-Thootkur M, Kraguljac NV, Lahti AC. The role of glutamate and GABA in cognitive dysfunction in schizophrenia and mood disorders - A systematic review of magnetic resonance spectroscopy studies. Schizophr Res. 2022;249:74–84.

211. Gaiarsa J-L, Kuczewski N, Porcher C. Contribution of metabotropic GABA(B) receptors to neuronal network construction. Pharmacol Ther. 2011;132(2):170–9.

212. Heaney CF, Kinney JW. Role of GABA(B) receptors in learning and memory and neurological disorders. Neurosci Biobehav Rev. 2016;63:1–28.

213. Terunuma M, Revilla-Sanchez R, Quadros IM, Deng Q, Deeb TZ, Lumb M, et al. Postsynaptic GABAB receptor activity regulates excitatory neuronal architecture and spatial memory. J Neurosci. 2014;34(3):804–16.

214. Almasi A, Zarei M, Raoufi S, Sarihi A, Salehi I, Komaki A, et al. Influence of hippocampal GABAB receptor inhibition on memory in rats with acute β-amyloid toxicity. Metab Brain Dis. 2018;33(6):1859–67.

215. Bañuelos C, Beas BS, McQuail JA, Gilbert RJ, Frazier CJ, Setlow B, et al. Prefrontal cortical GABAergic dysfunction contributes to age-related working memory impairment. J Neurosci. 2014;34(10):3457–66.

216. Rubia K, Lim L, Ecker C, Halari R, Giampietro V, Simmons A, et al. Effects of age and gender on neural networks of motor response inhibition: from adolescence to mid-adulthood. Neuroimage. 2013;83:690–703.

217. Bell EC, Willson MC, Wilman AH, Dave S, Silverstone PH. Males and females differ in brain activation during cognitive tasks. Neuroimage. 2006;30(2):529–38.

218. Li C-SR, Huang C, Constable RT, Sinha R. Gender differences in the neural correlates of response inhibition during a stop signal task. Neuroimage. 2006;32(4):1918–29.

219. Hosseini-Kamkar N, Morton JB. Sex differences in self-regulation: an evolutionary perspective. Front Neurosci. 2014;8:233.

220. Shibuya K, Park SB, Geevasinga N, Huynh W, Simon NG, Menon P, et al. Threshold tracking transcranial magnetic stimulation: Effects of age and gender on motor cortical function. Clin Neurophysiol. 2016;127(6):2355–61.

221. Bäckström T, Haage D, Löfgren M, Johansson IM, Strömberg J, Nyberg S, et al. Paradoxical effects of GABA-A modulators may explain sex steroid induced negative mood symptoms in some persons. Neuroscience. 2011;191:46–54.

222. Birzniece V, Bäckström T, Johansson I-M, Lindblad C, Lundgren P, Löfgren M, et al. Neuroactive steroid effects on cognitive functions with a focus on the serotonin and GABA systems. Brain Res Rev. 2006;51(2):212–39.

223. Friedman NP, Robbins TW. The role of prefrontal cortex in cognitive control and executive function. Neuropsychopharmacology. 2022;47(1):72–89.

224. Lückmann HC, Jacobs HIL, Sack AT. The cross-functional role of frontoparietal regions in cognition: internal attention as the overarching mechanism. Prog Neurobiol. 2014;116:66–86.

225. Numssen O, Bzdok D, Hartwigsen G. Functional specialization within the inferior parietal lobes across cognitive domains. Elife. 2021;10.

226. Ngetich R, Zhou J, Zhang J, Jin Z, Li L. Assessing the effects of continuous theta burst stimulation over the dorsolateral prefrontal cortex on human cognition: A systematic review. Front Integr Neurosci. 2020;14:35.

227. Curtis CE, D'Esposito M. Persistent activity in the prefrontal cortex during working memory. Trends Cogn Sci. 2003;7(9):415–23.

228. Glahn DC, Kim J, Cohen MS, Poutanen VP, Therman S, Bava S, et al. Maintenance and manipulation in spatial working memory: dissociations in the prefrontal cortex. Neuroimage. 2002;17(1):201–13.

229. Rowe JB, Toni I, Josephs O, Frackowiak RS, Passingham RE. The prefrontal cortex: response selection or maintenance within working memory? Science. 2000;288(5471):1656–60.

230. Krawczyk DC, Michelle McClelland M, Donovan CM. A hierarchy for relational reasoning in the prefrontal cortex. Cortex. 2011;47(5):588–97.

231. Christoff K, Prabhakaran V, Dorfman J, Zhao Z, Kroger JK, Holyoak KJ, et al. Rostrolateral prefrontal cortex involvement in relational integration during reasoning. Neuroimage. 2001;14(5):1136–49.

232. Santarnecchi E, Polizzotto NR, Godone M, Giovannelli F, Feurra M, Matzen L, et al. Frequency-dependent enhancement of fluid intelligence induced by transcranial oscillatory potentials. Curr Biol. 2013;23(15):1449–53.

233. Höller-Wallscheid MS, Thier P, Pomper JK, Lindner A. Bilateral recruitment of prefrontal cortex in working memory is associated with task demand but not with age. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114(5):E830–9.

234. Abellaneda-Pérez K, Vaqué-Alcázar L, Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D. Combining non-invasive brain stimulation with functional magnetic resonance imaging to investigate the neural substrates of cognitive aging. J Neurosci Res. 2022;100(5):1159–70.

235. Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019;90(8):870–81.

236. Dhiman K, Gupta VB, Villemagne VL, Eratne D, Graham PL, Fowler C, et al. Cerebrospinal fluid neurofilament light concentration predicts brain atrophy and cognition in Alzheimer's disease. Alzheimers Dement (Amst). 2020;12(1):e12005.

237. Rübsamen N, Maceski A, Leppert D, Benkert P, Kuhle J, Wiendl H, et al. Serum neurofilament light and tau as prognostic markers for all-cause mortality in the elderly general population-an analysis from the MEMO study. BMC Med. 2021;19(1):38.

238. Khalil M, Pirpamer L, Hofer E, Voortman MM, Barro C, Leppert D, et al. Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. Nat Commun. 2020;11(1).

239. Redondo-Camós M, Cattaneo G, Alviarez-Schulze V, Delgado-Gallén S, España-Irla G, Solana-Sanchez J, et al. Long-interval intracortical inhibition in primary motor cortex related to working memory in middle-aged adults. Front Psychol. 2022;13:998062.

240. Redondo-Camós M, Cattaneo G, Perellón-Alfonso R, Alviarez-Schulze V, Morris TP, Solana-Sanchez J, et al. Local prefrontal cortex TMS-induced reactivity is related to working memory and reasoning in middle-aged adults. Front Psychol. 2022;13:813444.

241. Abellaneda-Pérez K, Vaqué-Alcázar L, Vidal-Piñeiro D, Jannati A, Solana E, Bargalló N, et al. Age-related differences in default-mode network connectivity in response to intermittent theta-burst stimulation and its relationships with maintained cognition and brain integrity in healthy aging. Neuroimage. 2019;188:794–806.

242. Abellaneda-Pérez K, Martin-Trias P, Cassé-Perrot C, Vaqué-Alcázar L, Lanteaume L, Solana E, et al. BDNF Val66Met gene polymorphism modulates brain activity following rTMS-induced memory impairment. Sci Rep. 2022;12(1):176.

243. Shafi MM, Vernet M, Klooster D, Chu CJ, Boric K, Barnard ME, et al. Physiological consequences of abnormal connectivity in a developmental epilepsy: Cortical Connectivity. Ann Neurol. 2015;77(3):487–503.

244. Tomasino B, Gremese M. The cognitive side of M1. Front Hum Neurosci. 2016;10:298.

245. Ter Braack EM, de Vos CC, van Putten MJAM. Masking the auditory evoked potential in TMS-EEG: A comparison of various methods. Brain Topogr. 2015;28(3):520–8.

10. ANEXO

10.1. Financiación

El proyecto ha estado financiado por la Fundación "la Caixa" (n.° LCF/PR/PR16/11110004), por el Institut Guttmann y por la Fundación Abertis. También han colaborado Ad-Salutem Institute, Sodexo SA, ICA Informática y Comunicaciones Avanzadas, Neuroelectrics, Corporació Catalana de Mitjans Audiovisuals, Club Metropolitan, Casa Ametller, y la Agència de Qualitat i Avaluació Sanitàries de Catalunya-AQuAS. Todas estas compañías comerciales han apoyado el BBHI, y de esta forma, la presente tesis doctoral.