

# Effects of phosphodiesterase 4 inhibition after a short memory retrieval of contextual fear conditioning in rats

Citation for published version (APA):

Sohn, J. (2024). *Effects of phosphodiesterase 4 inhibition after a short memory retrieval of contextual fear conditioning in rats*. [Doctoral Thesis, Maastricht University, Universidade Federal do Parana]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240606js>

## Document status and date:

Published: 01/01/2024

## DOI:

[10.26481/dis.20240606js](https://doi.org/10.26481/dis.20240606js)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Effects of phosphodiesterase 4 inhibition after a short memory retrieval of contextual fear conditioning in rats

Jeferson Machado Batista Sohn, Ph.D. thesis defense summary.

### ABSTRACT

Fear memory retrieval is at the core of signs and symptoms of post-traumatic stress disorder (PTSD) a psychiatric disease induced by extreme life-threatening events. Short RET induces reconsolidation, which upholds the original fear memory, while long retrieval triggers extinction, inhibiting the original fear memory expression. These processes engage neural circuits involving the dorsal hippocampus (DH) and medial prefrontal cortex regions like the pre-limbic cortex (PL). Additionally, these processes activate intracellular signaling pathways, such as those involving cyclic adenosine monophosphate (cAMP). Phosphodiesterase 4 (PDE4) regulates this pathway by degrading cAMP. Inhibiting PDE4 has been suggested as a strategy to alter memory processing. However, the role of PDE4 after a short fear memory retrieval remains unknown. Advancing this knowledge may contribute to the development of novel treatments for PTSD aimed at modifying memory reconsolidation or extinction. This study aimed to evaluate whether PDE4 inhibition after a short retrieval alters the behavioral outcomes induced by retrieval. For this purpose, adult male Wistar rats were exposed to contextual fear conditioning. After a short retrieval session, the animals were treated with roflumilast (ROF; a PDE4 inhibitor) i.p. at doses of 0.01, 0.03, 0.1, or 0.3 mg/kg 5, 30 min, or 3 h after memory retrieval. After 1 and 10 days, the animals were re-exposed (3 min) to the conditioned context for Tests A1 and A2, respectively. Whereas no changes were observed during Test A1, the treatment with ROF 0.1 i.p. 5 min after retrieval significantly reduced freezing behavior in Test A2 suggesting a specific long-term effect. The expression of cAMP-response element binding (CREB), Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), Zinc finger 268 (Zif268), or protein kinase M $\zeta$  (PKM $\zeta$ ) in the DH and the PL after retrieval, Test A1, and A2 were evaluated to assess the role of these proteins in memory regulation. The treatment with ROF 0.1 5 min after retrieval increased the expression of proBDNF (16 kDa) in the DH after Test A1 and reduced Zif268 expression in the PL after Test A2. To understand the role of the DH and the PL in the observed effects, ROF (9 ng/0.5 or 0.2  $\mu$ L) was administered 5 min after retrieval directly into these regions. Accordingly, PDE4 inhibition (both involving PDE4B and PDE4D subtypes) in the DH significantly reduced freezing behavior in Test A2. Omitting the retrieval session or Test A1 reversed the ROF effects, indicating the effects depend on exposure to the conditioned context. Moreover, both extending the interval between retrieval and Test A1, inhibiting protein kinase A (PKA; after retrieval), or inhibiting protein synthesis (after Test A1) abolished the effects induced by ROF in the DH. The treatment with ROF in the DH induced effects sensitive to reinstatement and facilitated extinction in the day after treatment, favoring the interpretation that the effects of ROF after a short retrieval session are related to extinction but not reconsolidation. However, ROF administered directly in the PL sustained fear expression in Test A1, whereas there were no significant differences in Test A2. Therefore, it was evaluated whether ROF treatment after conditioning favors fear memory. However, treatment with 0.1 ROF i.p. impaired fear memory consolidation in weak training. To evaluate whether the same pattern of results occurred in another type of memory, the effects of ROF treatment on object recognition memory were assessed. Treatment with 0.1 ROF i.p. improved reconsolidation when administered 5 min after the retrieval and improved consolidation when administered 3 h after training. The results suggest that inhibiting PDE4 after a short retrieval induces, upon re-exposure to the conditioned context, memory extinction at a time that typically leads to reconsolidation. This effect is PKA-dependent and related to

increased proBDNF in the DH. The results of this study suggest that after a short fear memory retrieval, it is possible to modify the memory fate from reconsolidation to extinction, a mechanism that involves PDE4 inhibition.

**Keywords:** Extinction; Hippocampus; Pre-limbic; Roflumilast; Reconsolidation.

### NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het ophalen van herinneringen aan angst staat centraal in de tekenen en symptomen van posttraumatische stressstoornis (PTSS), een psychiatrische ziekte veroorzaakt door extreme levensbedreigende gebeurtenissen. Korte RET veroorzaakt reconsolidatie, wat de oorspronkelijke angstherinnering in stand houdt, terwijl langdurig ophalen extinctie veroorzaakt, waardoor de oorspronkelijke angstherinnering wordt geremd. Deze processen betrekken neurale circuits die de dorsale hippocampus (DH) en mediale prefrontale cortexregio's zoals de pre-limbische cortex (PL) omvatten. Bovendien activeren deze processen intracellulaire signaalroutes, zoals die welke betrokken zijn bij cyclisch adenosinemonofosfaat (cAMP). Fosfodiesterase 4 (PDE4) reguleert deze route door cAMP af te breken. Het remmen van PDE4 is voorgesteld als een strategie om het geheugenproces te veranderen. De rol van PDE4 na een korte herinnering aan angst blijft echter onbekend. Het bevorderen van deze kennis kan bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor PTSS gericht op het wijzigen van herbevestiging of extinctie van herinneringen. Dit onderzoek had tot doel te evalueren of PDE4-remming na een korte herinnering de gedragsresultaten beïnvloedt die worden veroorzaakt door het ophalen. Hiervoor werden volwassen mannelijke Wistar-ratten blootgesteld aan contextuele angstconditionering. Na een korte herinneringssessie werden de dieren behandeld met roflumilast (ROF; een PDE4-remmer) i.p. bij doses van 0,01, 0,03, 0,1 of 0,3 mg/kg 5, 30 minuten of 3 uur na het ophalen van het geheugen. Na 1 en 10 dagen werden de dieren opnieuw blootgesteld (3 minuten) aan de geconditioneerde context voor Tests A1 en A2, respectievelijk. Hoewel er geen veranderingen werden waargenomen tijdens Test A1, verminderde de behandeling met ROF 0,1 i.p. 5 minuten na het ophalen significant het bevroeringsgedrag in Test A2, wat wijst op een specifiek langetermijneffect. De expressie van cAMP-responselement bindend eiwit (CREB), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), zinc finger 268 (Zif268) of proteïne kinase M $\zeta$  (PKM $\zeta$ ) in de DH en de PL na ophalen, Test A1 en A2 werden geëvalueerd om de rol van deze eiwitten in geheugenregulatie te beoordelen. De behandeling met ROF 0,1 5 minuten na het ophalen verhoogde de expressie van proBDNF (16 kDa) in de DH na Test A1 en verminderde de expressie van Zif268 in de PL na Test A2. Om de rol van de DH en de PL in de waargenomen effecten te begrijpen, werd ROF (9 ng/0,5 of 0,2  $\mu$ L) 5 minuten na het ophalen rechtstreeks in deze gebieden toegediend. Dienovereenkomstig verminderde PDE4-remming (zowel betreffende PDE4B- als PDE4D-subtypen) in de DH het bevroeringsgedrag significant in Test A2. Het weglaten van de ophaalsessie of Test A1 keerde de effecten van ROF om, wat aangeeft dat de effecten afhankelijk zijn van blootstelling aan de geconditioneerde context. Bovendien hebben zowel het verlengen van het interval tussen ophalen en Test A1, het remmen van proteïne kinase A (PKA; na ophalen) als het remmen van eiwitsynthese (na Test A1) de effecten die door ROF in de DH worden veroorzaakt, tenietgedaan. De behandeling met ROF in de DH veroorzaakte effecten die gevoelig waren voor herinvoering en vergemakkelijkte extinctie op de dag na de behandeling, wat de interpretatie begunstigt dat de effecten van ROF na een korte ophaalsessie verband houden met extinctie, maar niet met herbevestiging. Daarentegen verhoogde ROF rechtstreeks toegediend in de PL de angstexpressie in Test A1, terwijl er geen significante verschillen waren in Test A2. Daarom werd geëvalueerd of de behandeling met ROF na conditionering de angstherinnering bevordert. Echter, behandeling met 0,1 ROF i.p.

belemmerde consolidatie van angstherinnering bij zwakke training. Om te evalueren of hetzelfde patroon van resultaten zich voordeed bij een ander type geheugen, werden de effecten van ROF-behandeling op het geheugen voor objectherkenning beoordeeld. Behandeling met 0,1 ROF i.p. verbeterde herbevestiging wanneer het 5 minuten na het ophalen werd toegediend en verbeterde consolidatie wanneer het 3 uur na training werd toegediend. De resultaten suggereren dat het remmen van PDE4 na een kort ophalen, bij herblootstelling aan de geconditioneerde context, geheugenuitdoving induceert op een moment dat doorgaans leidt tot herbevestiging. Dit effect is afhankelijk van PKA en gerelateerd aan een toename van proBDNF in de DH. De resultaten van dit onderzoek suggereren dat na een kort ophalen van angstherinnering het mogelijk is om het geheugen van herbevestiging naar extinctie te wijzigen, een mechanisme dat de remming van PDE4 omvat.

**Trefwoorden:** Uitdoving; Hippocampus; Pre-limbisch; Roflumilast; Herbevestiging.