

**Disruption of MIRO1/TRAK1-dependent  
trafficking of mitochondria in GABAergic neurons  
promotes epilepsy**

**Inaugural-Dissertation**

**Zur Erlangung des Doktorgrades**

**der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät**

**der Universität zu Köln**



**vorgelegt von**

**Kristaino Ndoci**

**Aus Shkoder, Albanien**

**Köln, 2023**

## ***I. Abstract***

Neurons rely on mitochondria for maintaining their metabolic functions. While the importance of mitochondrial trafficking in powering synaptic activity and plasticity in excitatory neurons is well established, little is known about the mechanisms that ensure mitochondrial distribution and function among different subtypes of GABAergic interneurons. MIRO1 is an outer mitochondrial membrane protein that, together with TRAK adaptor proteins, links mitochondria to microtubule-dependent motor proteins, and thus was shown to regulate bidirectional trafficking of mitochondria in axons as well as dendrites. Here, we studied the physiological relevance of mitochondrial trafficking and positioning at the synapse of the two most abundant classes of GABAergic (PV- and SST-expressing) interneurons in mice *in vivo* by generating *Miro1* conditional knockout mice ( $Miro1^{SST-ckO}$  and  $Miro1^{PV-ckO}$ ).  $Miro1^{SST-ckO}$  mice exhibited recurrent seizures due to imbalanced excitation/inhibition input ratio onto excitatory neurons, while  $Miro1^{PV-ckO}$  mice developed late onset progressive motor impairments. Importantly, diminished mitochondrial transport resulted in the progressive alteration of mitochondrial morphology, distribution and ultrastructure in SST+ and PV+ neurons, both in axons and dendrites, but without evident signs of neuronal degeneration. Protracted defective transport following either MIRO1 or TRAK1 ablation also led to mitochondrial dysfunction. Most notably, restoring mitochondrial movement by MIRO1 supplementation rescued mitochondrial integrity and considerably prolonged life expectancy of the epileptic mutant mice. Taken together, our models unveiled an interneuron subtype-specific role of mitochondrial trafficking in controlling network excitability.

## **II. Zusammenfassung**

Neuronen sind auf Mitochondrien angewiesen, um ihre Stoffwechselfunktionen aufrechtzuerhalten. Während die Bedeutung des mitochondrialen Verkehrs für die Aktivierung der synaptischen Aktivität und Plastizität in erregenden Neuronen gut erforscht ist, ist wenig über die Mechanismen bekannt, die die mitochondriale Verteilung und Funktion zwischen verschiedenen Subtypen von GABAergen Interneuronen sicherstellen. MIRO1 ist ein Protein der äußeren Mitochondrienmembran, welches zusammen mit TRAK-Adapterproteinen Mitochondrien mit Mikrotubuli-abhängigen Motorproteinen verbindet und somit nachweislich den bidirektionalen Transport von Mitochondrien in Axonen und Dendriten reguliert. In der vorgelegten Forschungsarbeit haben wir die physiologische Relevanz des mitochondrialen Transports und der Positionierung an der Synapse der beiden am häufigsten vorkommenden Klassen von GABAergen (PV- und SST-exprimierenden) Interneuronen in Mäusen *in vivo* untersucht, indem wir konditionale Miro1-Knockout-Mäuse (Miro1<sup>SST-cKO</sup> und Miro1<sup>PV-cKO</sup>) erzeugten. Miro1<sup>SST-cKO</sup>-Mäuse zeigten wiederkehrende epileptische Anfälle aufgrund eines unausgeglichene Verhältnisses von Erregungs-/Hemmungs-Signalen auf erregende Neuronen, während Miro1<sup>PV-cKO</sup>-Mäuse spät einsetzende progressive motorische Beeinträchtigungen entwickelten. Wichtig ist, dass der verringerte mitochondriale Transport zu einer fortschreitenden Veränderung der mitochondrialen Morphologie, Verteilung und Ultrastruktur in SST+- und PV+-Neuronen führte, sowohl in Axonen als auch in Dendriten, jedoch ohne offensichtliche Anzeichen einer neuronalen Degeneration. Ein längerer fehlerhafter Transport nach entweder MIRO1- oder TRAK1-Ablation führte ebenfalls zu einer mitochondrialen Dysfunktion. Am bemerkenswertesten ist, dass die Wiederherstellung der mitochondrialen Bewegung durch MIRO1-Supplementierung die mitochondriale Integrität wiederherstellt und die Lebenserwartung der epileptischen gen-veränderten Mäuse erheblich verlängerte. Zusammengefasst zeigen unsere Modelle eine Interneuron-Subtyp-spezifische Rolle des mitochondrialen Transports bei der Kontrolle der Erregbarkeit von Netzwerken auf.