

1 EINLEITUNG

1.1 Kaliumkanäle

Kaliumkanäle sind die häufigsten und vielfältigsten aller bekannten Ionenkanäle. Sie werden in fast allen erregbaren und nicht erregbaren Zellen exprimiert, und bilden somit eine nahezu ubiquitär vorkommende Familie von Membranproteinen, welche an einer Vielzahl von unterschiedlichen Prozessen beteiligt sind. Dazu gehören die Kontrolle des Membranruhepotentials, die Steuerung der Sekretion von Hormonen, die Regulation elektrischer Erregbarkeit von Neuronen und deren synaptische Plastizität (Rudy, 1988). Ihre Aktivität wird durch Änderung des Membranpotentials, durch den Zellmetabolismus oder durch Transmitter und Hormone reguliert (Hille, 1992).

Für die verschiedenen Funktionen existieren unterschiedliche Kaliumkanäle. Ihre Vielfalt wird durch mehrere Faktoren ermöglicht. Es existiert eine große Anzahl von Genen, und von einem Gen können durch alternatives Splicing mehrere mRNA-Transkripte erzeugt werden.

Der funktionsfähige Kaliumkanal entsteht durch die Zusammenlagerung mehrerer Untereinheiten, diese Untereinheiten werden als primäre, oder α -Untereinheiten bezeichnet. Weitere Proteine können mit den α -Untereinheiten assoziiert sein, und werden dann akzessorische, oder β -Untereinheiten genannt.

Vier α -Untereinheiten lagern sich zu einem Tetramer zusammen und bilden eine membranintegrierte Pore (Jan und Jan, 1997; Pongs, 1995).

Die Heterogenität der Kanalporen wird verstärkt durch die Zusammenlagerung verschiedener Untereinheiten zu einem Heterotetramer mit neuen funktionellen Eigenschaften (Christie et al., 1990; Isacoff et al., 1990; Ruppertsberg et al., 1990).

Die Bildung von Heterotetrameren beschränkt sich jedoch auf Mitglieder einer Familie und erfolgt nicht unter Einheiten verschiedener Subfamilien (Covarrubias et al., 1991; Salkoff et al., 1992).

Zusätzlich können die zytoplasmatischen β -Untereinheiten die Kaliumkanaleigenschaften maßgeblich verändern (Robertson, 1997).

1.1.1 Einteilung, Aufbau und Funktion der Kaliumkanäle

Die bislang molekular identifizierten Kaliumkanäle werden in drei größere Gruppen unterteilt, welche sich in der Zahl der Transmembrandomänen (2, 4 oder 6) der α -Untereinheiten unterscheiden, diese sind die einwärtsgleichrichtenden Kaliumkanäle, spannungsabhängige Kaliumkanäle und die noch wenig erforschten MinK- Kanäle.

1.1.2 Einwärtsgleichrichtende Kaliumkanäle

Einwärtsgleichrichtende Kaliumkanäle (K-IR) wurden zum ersten Mal von Katz (1949) im Skelettmuskel beschrieben. Bei elektrophysiologischen Untersuchungen fiel ihr Verhalten auf, weil es sich von den damals schon bekannten spannungsabhängigen Kaliumkanälen unterscheidet: Sie leiten bei negativen Membranpotentialen Einwärtsströme besser als Auswärtsströme. Letztere werden durch intrazelluläre Kationen wie Magnesium und Polyamine (Spermin, Spermidin) spannungsabhängig blockiert (Matsuda, 1987; Vandenberg, 1987; Lopatin et al., 1994; Yamada und Kurachi, 1995).

Die Kanäle sind in der Nähe des Kaliumgleichgewichtspotentials geöffnet und schließen bei zunehmender Depolarisation der Zellmembran. Aufgrund dieser Eigenschaften spielen sie eine wichtige Rolle bei der Stabilisierung des Membranruhepotentials.

Die K-IR Kanäle sind aus vier Alpha- und vier Beta-Untereinheiten aufgebaut.

Die Beta-Untereinheiten sind Hilfsproteine und müssen nicht membranintegriert sein. Sie sind mit den Alpha-Untereinheiten, die den eigentlichen Kanal formen, assoziiert.

Eine Alpha-Untereinheit besteht im einfachsten Fall aus zwei membrandurchspannenden, hydrophoben Segmenten M1 und M2 und einer dazwischen liegenden hydrophoben Domäne H5, die von der extrazellulären Seite in die Membran eintaucht und an der Bildung des Kanals beteiligt ist.

1.1.3 Spannungsabhängige Kaliumkanäle

Spannungsabhängige Kaliumkanäle (Kv) besitzen im Gegensatz zu den einwärtsgleichrichtenden Kaliumkanälen eine intrinsische Spannungsabhängigkeit, die über einen Spannungssensor des Kanalproteins vermittelt wird (Hille, 1992). In

eukaryonten Zellen öffnen sie bei Potentialen positiv vom Ruhemembranpotential und fördern so durch Auswärtsströme die Repolarisation.

Diese auswärtsgleichrichtenden Kaliumkanäle lassen entsprechend ihrer Inaktivierungsgeschwindigkeit zwei Unterformen unterscheiden: den schnell inaktivierenden A-Typ und die langsam oder nicht inaktivierenden Kanäle (delayed rectifier).

Die erstmalig in *Drosophila* entdeckten spannungsabhängigen Kaliumkanäle konnten auch bei Säugetieren nachgewiesen werden (Salkoff et al., 1992).

Abgeleitet von *Drosophila melanogaster*-Mutanten erfolgt eine Einteilung der bisher klonierten spannungsaktivierten Kaliumkanäle in sechs Subfamilien: Shaker (Kv 1.1-1.7), Shab (Kv2.1, 2.2), Shaw (Kv 3.1-3.4), Shal (Kv4.1-4.3), eather-a-go-go (oder eag) und slowpoke (oder slo) (Roeper et Pongs, 1996).

Entsprechend der Nomenklatur Kv n.m bezeichnet n die Subfamilie und m das Mitglied. Mindestens 30 Gene sind bekannt, die für Shaker-Typ Kv- α -Untereinheiten im Säugetiergenom kodieren (Pongs et al., 1999).

Diese Arbeit untersucht sechs spannungsabhängige Kaliumkanäle der Shaker-Subfamilie: Kv1.1, Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5 und Kv1.6, wobei die meisten zu den langsam inaktivierenden Kanal-Typen (delayed rectifier) zählen, mit Ausnahme von Kv1.4, welcher ein schnell inaktivierender A-Typ ist.

Die Mitglieder der Subfamilie Kv1.1-1.6. gelten als die klassischen Vertreter der Kv-Kanalklasse, sie wurden auch als erstes kloniert (Veh et al., 1995). Einige Kanäle der Shaker-Subfamilie bestehen aus 4 Alpha- und 4 Beta-Untereinheiten (Scott et al., 1994; Sewing et al., 1996). Bei einem Molekulargewicht der Alpha-Untereinheit von 70 bis 80 kDa und dem der Beta-Untereinheit von 40 kDa ergibt sich ein Gesamtgewicht der Kanäle von ungefähr 400 kDa bei einem Stokes-Radius von 8,6 nm. Eine Alpha-Untereinheit wird aus einem langen Polypeptid gebildet, welches aus sechs membrandurchspannenden Segmenten (S1 bis S6) besteht (Jan und Jan, 1992; Pongs, 1992; Chandy und Gutman, 1995). Das Polypeptid wird von zytoplasmatischen amino- und karboxyterminalen Bereichen unterschiedlicher Länge flankiert. Zwischen den Segmenten 5 und 6 findet sich eine von außen in die Membran hineinragende H5-Domäne. Dieses H5-Segment bildet zusammen mit dem Linker zwischen S4 und S5 und dem karboxyterminalen Bereich des Segments S6 die Kanalpore (Pongs, 1992). Vier α -Untereinheiten lagern sich zu einem Kanal zusammen. Vier gleiche Untereinheiten bilden heterotetramere Komplexe (Timpe et al., 1988). Heterotetramere

Kanäle bestehen aus verschiedenen Untereinheiten, wobei sich nur solche der gleichen Subfamilie kombinieren lassen (Covarrubias et al., 1991; Li et al., 1992). Eine für die Tetramerisierung verantwortliche Domäne (T1) konnte bereits für die Kv1-Subfamilie bestimmt werden. Sie befindet sich in der aminoterminalen Sequenz der Alpha-Untereinheit und zeigt zwei konservierte Sequenzbereiche T1-A und T1-B, die die Assoziation der Untereinheit spezifizieren (Shen und Pfaffinger, 1995).

Die Bildung heterooligomerer Proteinkomplexe durch Assoziation von Beta-Untereinheiten an die Alpha-Untereinheiten erweitert die Vielfalt der Kanalfamilie. Beta-Untereinheiten sind zytoplasmatische Proteine, die eine hohe Sequenzhomologie zu Enzymen der Familie der NAD(P)H-abhängigen Oxidoreduktasen aufweisen (McCormack und McCormack, 1994). Bis heute konnten drei Gene identifiziert werden, die für Kv β -Proteine kodieren. Varianten entstehen durch unterschiedliches Splicing (Rettig et al., 1994; Scott et al., 1994). Es wurde gezeigt, daß Kv β 1 und Kv β 2 mit den Kv1 α -Untereinheiten agieren (Yu et al., 1996; Sewing et al., 1996). Die Assoziation der Beta-Untereinheiten erfolgt nach bestimmten Regeln. Betreffs der Kv1-Subfamilie konnte eine Domäne von neun Aminosäuren im Aminoterminus der Alpha-Untereinheit für die Beta-Bindung verantwortlich gemacht werden. Diese Aminosäuresequenz ist hochkonserviert und befindet sich ebenfalls in der für die Tetramerisierung der Alpha-Untereinheit zuständigen T1-Region. Ähnliche Sequenzen finden sich in den aminoterminalen Bereichen der Alpha-Untereinheiten von Kv2 bis Kv4. Vermutet werden kann die Existenz eigener Beta-Untereinheiten für jede dieser Subfamilien. Die alpha/beta-Wechselwirkung ist wahrscheinlich hydrophober Natur (Sewing et al., 1996). Die Bindung der β -Untereinheit an die α -Untereinheit kann verschiedene funktionelle Konsequenzen nach sich ziehen. Es kann die Expression der α -Untereinheit auf der Zelloberfläche erhöhen (Shi et al., 1996), oder die spannungsabhängige Aktivierung der Kv-Kanäle verändern (Heinemann et al., 1996). Die Koexpression von Kv β 1 und bestimmten Kv1 α -Untereinheiten kann Kanäle vom delayed-rectifier-Typ in schnell-inaktivierende A-Typ-Kanäle konvertieren (Rettig et al., 1994).

Spannungsabhängige Kaliumkanäle können innerhalb der Nervenzellen entweder im axonalen oder somatodendritischen Abschnitt oder beiden Kompartimenten gefunden werden. Diese Variabilität in Zusammensetzung und Auftreten der Kv1 α -Kanäle trägt

mit dazu bei, daß sich Nervenzellen an verschiedene funktionelle Ansprüche adaptieren können (Große et al., 2000).

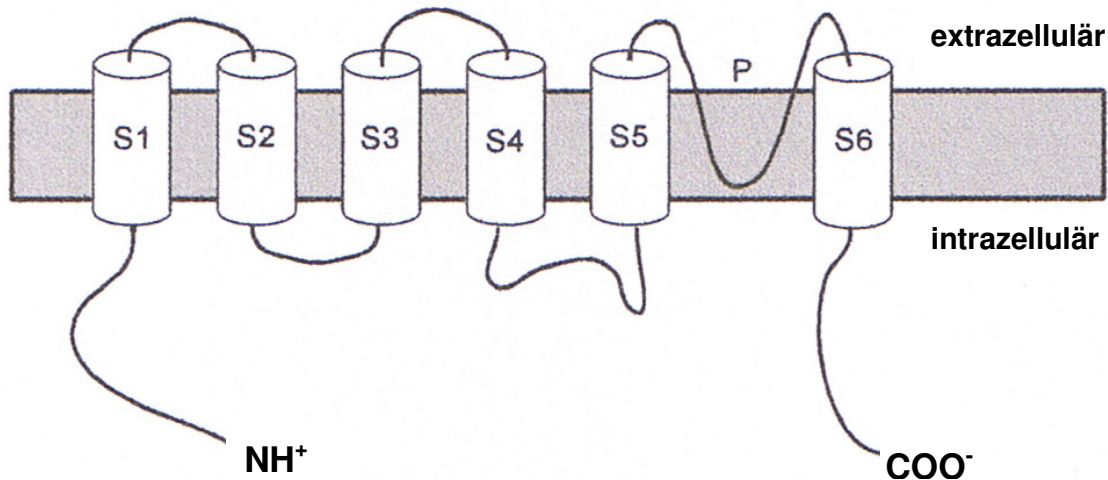


Abbildung 1 schematische Darstellung einer α -Untereinheit eines Kv-Kanals, modifiziert nach Roeper und Pongs.

Jede Zelle besitzt für anorganische Ionen einen Konzentrationsgradienten zwischen intrazellulär und extrazellulär. Die Konzentration von Kaliumionen ist in der Regel im Zytoplasma höher als im Extrazellulärraum. Natrium, Chlorid und Kalzium zeigen eine gegenteilige Verteilung. Diese Gradienten und aktivierbare Ionenkanäle in der Zellmembran ermöglichen ein System elektrischer Signalentstehung und -übertragung (Hille, 1992). Ionenkanäle formen Poren, die einen transmembranösen Ionenfluß entlang des elektrischen Gradienten erlauben. Pro Sekunde gelangen 1 000 000 bis 100 000 000 Ionen durch einen Kanal. Dadurch entsteht ein elektrischer Strom in der Größenordnung von 10^{-12} bis 10^{-10} Ampere je Kanal. Solche Ströme sind groß genug, das Membranpotential kurzzeitig zu verändern. Die Änderung des Membranpotentials bewirkt Aktivierung und Öffnung spannungsabhängiger Ionenkanäle. Bei den Kv-Kanälen ist das membrandurchspannende Segment S4 für diesen Vorgang bedeutsam. Die positiven Ladungen von S4 werden bei Depolarisation neutralisiert, was zu einer Konformationsänderung und Öffnung des Kanals führt. An der Bildung des äußeren Poreneingangs ist das oben beschriebene H5-Segment beteiligt, welches eine wesentliche Rolle für die Selektivität der Kaliumkanäle, ihre Leitfähigkeit sowie für Öffnungs- und Inaktivierungsverhalten spielt (Hartmann et al., 1991; Yool und Schwarz,

1991; Heginbotham et al., 1994). Der innere Poreneingang scheint von Bereichen des S4/S5-Verbindungsstückes unter Beteiligung von Sequenzen des S6-Carboxyterminus gebildet zu werden. In der Pore stellen möglicherweise Schleifenstrukturen sich gegenseitig beeinflussende, hintereinander geschaltete, hoch selektive Kaliumbindungsstellen dar (Sewing et al., 1996).

1.2 SAP90/PSD95 und SAP97

Die Signalübertragung zwischen Neuronen erfolgt an Synapsen. Chemische Synapsen sind Kommunikationsstellen, an welchen ein elektrisches Signal durch Transmitterfreisetzung in ein chemisches Signal umgewandelt wird. An der postsynaptischen Membran wird dieses wiederum in ein elektrisches Signal verwandelt. Dieser Vorgang benötigt ein Zusammenspiel vieler Proteine und Signalmoleküle, die an der prä- und postsynaptischen Membran verankert sind, oder mit ihr in Verbindung stehen. Die synaptischen Membranen sind eng mit Filamenten des Zytoskeletts assoziiert.

In synaptischen Proteinfractionen wurden verschiedene Mitglieder einer Proteinfamilie gefunden, die seither als synapsenassoziierte Proteine (SAP) bezeichnet werden. Alle sind in verschiedenen Regionen des ZNS, vorwiegend in den Synapsen lokalisiert, bis auf SAP97, dieses konnte auch in unterschiedlichen peripheren Organen identifiziert werden (Müller et al., 1995; Jöns et al., 1999).

Sie gehören zur Familie der MAGUK-Proteine, wobei MAGUK für „membran associated guanylate kinase homologues“ steht. Die Mitglieder der MAGUK-Familie sind durch das gemeinsame Vorkommen von drei charakteristischen Domänen gekennzeichnet (Cho et al., 1992; Woods and Bryant, 1991): Drei aminoterminal PDZ-Domänen, eine SH3-Domäne und der GUK-Domäne. PDZ leitet sich her von den Anfangsbuchstaben der ersten drei Mitglieder dieser Familie: PSD95 (protein of postsynaptic density of 95kDa), Dlg (Drosophila lethal discs-large-1 tumor suppressor gene) und ZO-1 (Zonula-Occludens-Protein-1).

Die PDZ-Domänen sind die bisher am besten untersuchten Domänen der MAGUK-Proteine. Eine PDZ-Domäne stellt einen 80-90 Aminosäuren langen Peptidabschnitt dar und enthält Bindungsstellen für verschiedene Membranproteine, die über die letzten drei bis zehn C-terminalen Aminosäuren gebunden werden. Im Hefe-Zwei-Hybrid-System konnte gezeigt werden, daß SAP mit der ersten und zweiten PDZ-Domäne an

Glutamatrezeptoren des NMDA-Typs und an bestimmte K⁺-Kanäle binden. Dabei binden sie an den Carboxyterminus der Rezeptoren, die das Motiv T7SXV besitzen (single letter code, X ist eine beliebige Aminosäure). Werden NMDA-Rezeptoren zusammen mit SAP90 in COS7-Zellen exprimiert, so bilden sich Rezeptor-Cluster auf der Zelloberfläche. Die Cluster bilden sich nicht, wenn NMDA-Rezeptoren oder SAP90 alleine exprimiert werden (Kim et al., 1996). Die Funktion der GUK-Domäne bei MAGUK-Proteinen ist noch ungeklärt. Die ATP abhängige Phosphorylierung von GMP zu GDP durch MAGUK-Proteine konnte noch nicht nachgewiesen werden. Das Bindungsverhalten für die Nukleotide ist zwischen den Familienmitgliedern sehr unterschiedlich. Erythrozytäres P55 bindet sowohl ATP wie GMP; ZO-1 und ZO-2 binden keines von beiden; SAP90 nur GMP, aber kein ATP und dürfte somit, wie die ZO-Proteine, keine Enzymaktivität aufweisen (Kistner et al., 1995). Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit SAP97 und SAP90/PSD-95, im folgenden SAP90 genannt. Bei diesen Proteinen wird davon ausgegangen, daß sie möglicherweise die spannungsabhängigen Kaliumkanäle Kv1 α in der Retina clustern.

1.3 Die Retina

Die Retina der Ratte ist in ihrer Struktur, der neuronalen Verschaltung und den biochemischen Prozessen weitgehend vergleichbar mit der menschlichen Retina (Sefton, 1995). Sie ist als Modell zur Erforschung der Retina in der Wissenschaft etabliert, da sie klar strukturiert, morphologisch wie funktionell gut charakterisiert und experimentell gut zugänglich ist.

Die Retina ist eine 200 µm dicke Schicht von Nerven- und Pigmentepithelzellen, die den Augenhintergrund auskleidet. Sie entwickelt sich aus der Augenblase und ist somit neuroektodermalen Ursprungs. Wenn die Augenblase zum Augenbecher eingefaltet ist, liegen zwei Blätter aufeinander; das innere Blatt wird Stratum nervosum, das äußere Stratum pigmentosum retinae genannt. Derjenige Teil der Retinaanlage, der den Ziliarkörper und die Iris bedeckt, differenziert sich nicht zu Nervengewebe, sondern bleibt ein zweischichtiges Epithel. Da dieser Teil keine Photorezeptoren enthält, wird er als pars caeca, als blinder Teil, von der Pars optica, dem photorezeptiven Teil, unterschieden. Der Übergang von der Pars optica retinae zur Pars caeca erfolgt an der Ora serrata. An der Ora serrata und im Bereich des Sehnervenaustritts ist die Pars optica retinae an ihrer Unterlage befestigt. Im ganzen übrigen Bereich, der dem ehemaligen Sehventrikel entspricht, ist sie nur lose mit dem Pigmentepithel verzapft, was die Netzhautablösungen zwischen Stratum pigmentosum und Stratum nervosum verständlich macht.

1.4 Histologie der Retina

Die Retina setzt sich bei allen Wirbeltieren aus unterschiedlichen Schichten zusammen: aus den Lichtsinneszellen (Photorezeptoren), gegliedert in die Außen- und Innensegmente mit den Zellkernen (engl.: ONL = outer nuclear layer, äußere nukleäre Schicht), der Schicht der Interneurone (engl.: INL = inner nuclear layer, innere nukleäre Schicht), bestehend aus Horizontalzellen, Bipolarzellen und Amakrinzellen und aus der Schicht der Ganglienzellen (engl.: GCL = ganglion cell layer). Die äußere nukleäre Schicht und die innere nukleäre Schicht werden durch die äußere plexiforme Schicht (engl.: OPL = outer plexiform layer), die innere nukleäre Schicht und die Schicht der Ganglienzellen durch die innere plexiforme Schicht (engl.: IPL = inner plexiform layer)

getrennt. Diese Zwischenschichten sind praktisch frei von Zellkörpern, aber reich an Neuronenkontakten (Abb. 2).

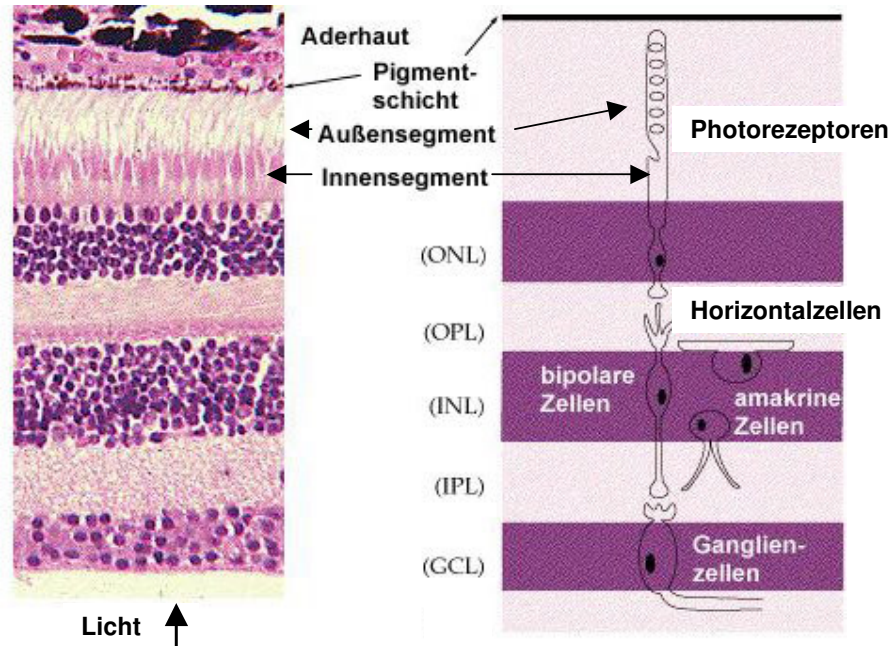


Abbildung 2 Aufbau der Zellschichten der Retina. Das linke Bild zeigt eine mikroskopische Aufnahme einer humanen Retina (HE-Färbung), im rechten Bildabschnitt sind die unterschiedlichen Schichten schematisch dargestellt (nach Egbert).

Hinsichtlich der Informationsverarbeitung können drei hierarchische neuronale Stufen unterschieden werden: Das 1. Neuron der Sehbahn sind die Photorezeptoren. Die Bipolarzellen bilden das 2. Neuron, die Ganglienzellen das 3. Neuron.

Die Ganglienzellaxone sind im Sehnerv gebündelt und projizieren auf die Hauptzellen des Corpus geniculatum laterale, welche das 4. Neuron der Sehbahn darstellen.

Das Auge der Wirbeltiere wird auch „inverses Auge“ genannt, da das Licht erst die anderen Zellschichten durchdringen muß, ehe es die Lichtsinneszellen (Photorezeptoren) erreicht (Abb. 2).

Das eintretende Licht wird von den Außensegmenten der Photorezeptoren absorbiert. In der menschlichen adulten Retina gibt es etwa 6,4 Millionen Zapfen und 110-125

Millionen Stäbchen, die durch Phototransduktion Lichtreize in neuronale Signale umwandeln. Wie der Name schon impliziert, sind die Zapfen kurze, konische und die Stäbchen lange, stäbchenförmige Zellen.

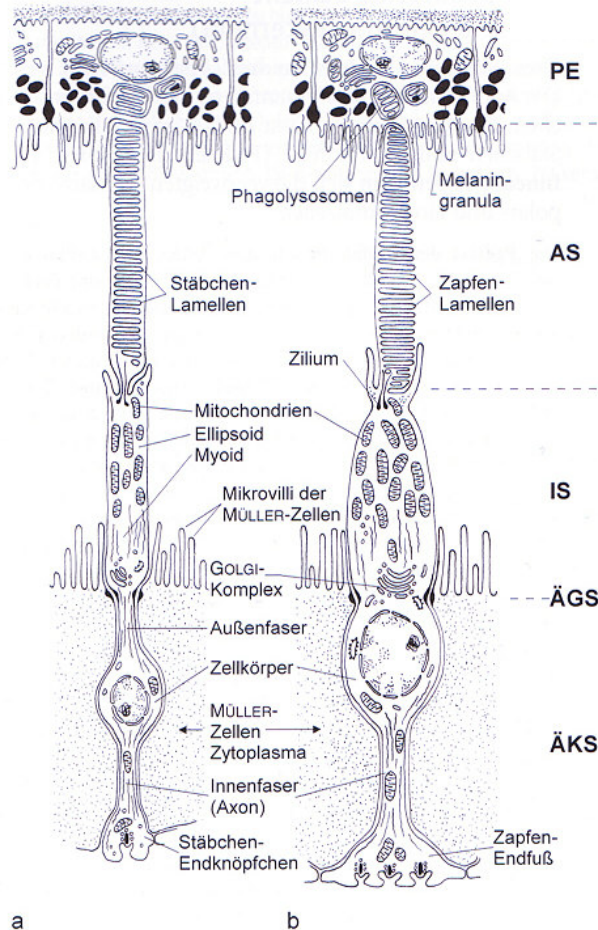


Abbildung 3 Schema der Ultrastruktur von Stäbchen (a) und Zapfen (b).

PE: Pigmentepithel, **AS:** Außensegmente der Photorezeptoren, **IS:** Innensegmente der Photorezeptoren, **ÄGS:** äußere Grenzschicht, **ÄKS:** äußere Körnerschicht. (Modifiziert nach G.Rager/Drenckhahn).

Der innere Aufbau der Stäbchen und Zapfen ist in den Grundzügen ähnlich: Das Außensegment enthält den Sehfärbstoff, ist also der Lichtsensor. Es ist über ein Kinociliensegment mit dem Innensegment verbunden. Das Innensegment endet an der

äußeren Grenzschicht. Beim Stäbchen folgt nach innen ein faserförmiger Abschnitt (Außenfaser), der das Innensegment mit dem in der äußeren Körnerschicht gelegenen Perikaryon verbindet. Beim Zapfen ist die Außenfaser nur schwach bzw. gar nicht ausgebildet. Das Innensegment geht meist direkt in das Perikaryon der Rezeptorzelle über. Die Zelleiber von Stäbchen und Zapfen reichen mit ihren faserförmigen Innenfasern bis in die äußere plexiforme Schicht. Dort enden die Zapfen mit breiten Endfüßen und die Stäbchen mit Endknöpfchen. Das Außensegment der Zapfen ist lediglich halb so lang, wie das Außensegment der Stäbchen (Carter-Dawson und LaVail, 1979).

Neben der unterschiedlichen Form haben beide Zelltypen eine verschiedene Aufgabe. Die Zapfen stellen die Träger des photopischen Sehens, das heißt das Scharfsehen, etwa beim Lesen bei heller Umgebungsbeleuchtung, dar und sind für die räumliche Wahrnehmung und für das Farbsehen verantwortlich. Die lichtempfindlichen Stäbchen dienen dem skotopischen Sehen, das heißt dem Sehen bei schwachem Licht zur Unterscheidung von Grautönen. Sie sind für die Verarbeitung von Kontrast, Helligkeit und Bewegung zuständig.

In den Außensegmenten der Photorezeptoren befinden sich Membranstapel, welche das Sehpigment enthalten. Das Sehpigment besteht aus dem Protein Opsin und seinem Liganden, dem Chromophor 11-cis-Retinal. Minimale Aminosäuresequenzunterschiede führen zu unterschiedlichen Absorptionsmaxima der Zapfen. Der äußere Teil der Außensegmente der Photorezeptoren ragt in das Pigmentepithel der Retina, das neben der Abschirmung des Lichtes nach hinten auch für die Phagozytose von abgeschilferten Partikeln der Außensegmente der Photorezeptoren zuständig ist.

Die von den Photorezeptoren umgewandelten neuronalen Signale werden von den Bipolarzellen empfangen. Bei den Bipolarzellen lassen sich Stäbchen- und Zapfenbipolarzellen unterscheiden. Bei den Zapfenbipolarzellen sind 3 Gruppen beschrieben: Zwergbipolarzellen, diese sind nur mit einem Zapfen und einer Ganglienzelle verbunden. Auf Belichtung reagieren die Bipolarzellen, welche in der proximalen inneren plexiformen Schicht enden, mit Depolarisation, weshalb sie auch ON-Zellen genannt werden. Diejenigen, welche im weiter distalen Bereich der inneren plexiformen Schicht enden, werden OFF-Zellen genannt, da sie auf Belichtung der Zapfen mit Hyperpolarisation reagieren.

Die S-Bipolarzellen sind mit maximal zwei oder drei Zapfen verbunden. Ihr Axon endet in der ON-Schicht der inneren plexiformen Schicht. Die diffusen Bipolarzellen werden von Dendriten von bis zu zehn Zapfen erreicht. Sie können entweder ON- oder OFF-Zellen sein.

Die Stäbchenbipolarzellen kontaktieren bis zu 40 Stäbchenspherulen. Ihre Axone enden in der proximalen inneren plexiformen Schicht. Sie sind ausschließlich vom ON-Typ. Die innere plexiforme Schicht kann wiederum in 5 Schichten unterteilt werden: Die äußeren beiden Schichten enthalten die Fortsätze der cholinergen OFF-Amakrinzellen, die Dendriten der OFF-alpha-Zellen. Dort befinden sich zudem sehr viele Synapsen und GABA Rezeptoren. Der mittlere Bereich grenzt den OFF-Bereich vom ON-Bereich ab. Im proximalen, unteren Bereich enden die Axone der ON-Bipolarzellen und die Fortsätze der ON-cholinergen Amakrinzellen. Auch hier sind daher viele Synapsen vorhanden (Wässle, 2004).

Zwischen den Photorezeptorzellen und den Bipolarzellen befinden sich die Horizontalzellen, die aber nur mit den Photorezeptoren in Kontakt stehen und für die Verstärkung der räumlichen Unterschiede der Lichtintensität durch laterale Inhibition zuständig sind.

Die Amakrinzellen besitzen keinen langen Fortsatz. Stattdessen haben sie zahlreiche stark verzweigte Fortsätze, die Merkmale von Dendriten oder von Axonen aufweisen. Die Amakrinzellen haben direkten Kontakt zu den Bipolar- und Ganglienzellen. Sie sind Interneurone. Es gibt zwei Populationen von Amakrinzellen: Die größere Zahl hat ihre Perikaryen in der inneren Körnerschicht, an der Grenze zur inneren plexiformen Schicht, und die kleinere Zahl in äußeren Abschnitten der Ganglienzellschicht. Letztere werden auch deplazierte Amakrinzellen genannt. In den letzten Jahren sind mehr als 30 verschiedene Amakrinzellen beschrieben worden, welche sich nach Lage, Struktur und Transmittergehalt unterscheiden.

Die Ganglienzellschicht besteht aus Ganglienzellen und deplazierten Amakrinzellen. Die Ganglienzellen sind multipolare Neurone mit einem Durchmesser von 10-30 μm und einem großen Zellkern. Die Dendriten variieren in Anzahl und Verzweigungsmuster. Man kann morphologisch nach α -, β -, γ -, und δ -Ganglienzellen unterscheiden (Wässle und Boycott, 1991).

Die Dichte der Ganglienzellen nimmt von der Macula, wo bis zu zehn Reihen von Zellen übereinandergelagert sind, zur Peripherie hin stark ab. Dort ist in der Regel nur eine Reihe von Zellen vorhanden.

Im Stratum neurofibrarum konvergieren die Axone der Ganglienzellen aus der ganzen Retina auf die Papille hin. Die Axone verlaufen in Bündeln und werden von Fortsätzen der Müller-Zellen und Astrozyten begleitet. Eine Markscheide erhalten sie erst im N. opticus.