

Cytoskelet

- mikrofilamenta
- intermediární filamenta - během vývoje - vimentin nahrazen neurofilamenty
 - klesá exprese nestinu
- mikrotubuly
- vysoce asymetrický tvar neuronů – nutno hodně cytoskeletu
- i neuron specifické cytoskeletární a cytoskeleton-interagující proteiny
- dynamický systém – transport
 - tvorba a modulace synapsí
 - růst a maturace neuritů
 - vliv na funkci iontových kanálů
 - mechanická podpora
 - prostorová organizace buněčných struktur
 - ukotvení proteinů, jejich sorting a sekrece
 - buněčné signalizace
 - role v neuropatologiích

Mikrofilamenta

- průměr 7 nm
- polymerizace aktinu

G-aktin – solubilní forma

F-aktin – polymerizovaná forma

„treadmiling“ – na jednom konci vlákna je ATP a na druhém ADP

- k ATP se připojují monomery aktinu a od ADP se odpojují (depolymerizace)

Neurony – mikrofilamenta v cytoplazmě (hlavně v blízkosti cytoplazmat. membrány)

- hodně v presynaptických i postsynaptických terminálech
- ve vyvíjejících se neuronech dlouhá vlákna ve filopodiích „growth cones“

Mikrofilamenta

- přestavba mikrofilament - úloha actin binding proteins (ABPs)

ABPs – aktivita některých ABP regulována Ca^{2+} signalizací

Příklady ABP:

- N-WASP + Arp 2/3 – kontrola růstu mikrofilament - důležité pro růst neuritů
 - VASP/Ena – anti-capping protein – podpora polymerizace aktinu – růst neuritů
 - Tropomyosin – stabilizace F-aktinu, blokuje interakci s aktin depolymerizujícími faktory
- bundling a crosslinking proteiny – spektriny – tvorba svazků
- různé v dendritech a různé v axonech
- synapsiny - časté v presynaptických terminálech
- fosforylace CaMK
- schopnost vázat synaptické váčky k mikrofilamentům
- fosforylace ← akční potenciál → uvolnění váček a jejich transport k membráně
- ukotvení F-aktinu k membráně – ankyriny, vinculin, ...

Table 13.1 Major actin-binding proteins

Protein	Properties
ADF/Cofilin	Sequesters G-actin. Severs F-actin. Abundant in growth cones and presynaptic terminals
Gelsolin	Severs and caps F-actin. Modulated by Ca^{2+} and PIP ₂ . Present in growth cones
Profilin	Sequesters G-actin. Catalyses actin nucleotide exchange. Modulated by PIP ₂ . Abundant in growth cones.
WASP/SCAR	Activates Arp 2/3 complex. Promotes actin filament nucleation. Present in growth cones
Arp 2/3	Interacts with WASP/SCAR. Controls actin filament nucleation and branching. Present in growth cones
ENAVASP	'Anti-capping' protein. Nucleates actin polymerization. Bundles and crosslinks actin filaments. Binds profilin. Present in growth cones

F-actin stabilizing proteins

Tropomyosin	Dimer. Present both in dendrites and axons (including growth cones)
-------------	---

Table 13.1 (continued) Major actin-binding proteins

Protein	Properties
<i>Actin-activated ATPases</i>	
Myosin I	
Myosin II	
Myosin V	

F-actin bundling and crosslinking proteins

α -Actinin	Dimer. Modulated by Ca^{2+} . Binds vinculin, integrin and catenin. Present in growth cones
Amelin	Bundles F-actin and enhances spectrin binding. Abundant in soma and dendrites of mature neurons
Dystrophin	Dimer. Similar to spectrin
Filamin	Dimer. Crosslinks F-actin into networks. Present in growth cones.
Fimbrin	Bundles F-actin. Present in growth cones
MARCKS family	Crosslinks F-actin. Modulated by calmodulin binding and PKC phosphorylation
Spectrin ($\alpha\beta$)	Heterodimer and tetramer. Crosslinks F-actin into networks. Modulated by Ca^{2+} /calmodulin. Abundant in soma and dendrites of mature neurons. Enriched in dendritic spines
Fodrin/Spectrin ($\alpha\gamma$)	Homologous to spectrin. Present in growth cones. Abundant in axons
Synapsin I	Bundles F-actin and enhances spectrin binding. Associated with synaptic vesicles. Abundant in presynaptic terminals
Utrophin	Dimer. Similar to spectrin

Proteins anchoring F-actin to membranes

Ankyrin	Anchors spectrin to membrane proteins
Catenin	Binds actin, α -actinin and cadherin
Talin	Binds vinculin and integrin. Present in growth cones
Vinculin	Binds actin, talin and α -actinin. Present in growth cones

Mikrofilamenta a synapse

- v synaptických terminálech hlavně aktin – jeho přestavby ovlivňují sílu synapsí

Mikrofilamenta - tvorba, eliminace, stabilita, změny tvaru a velikosti synapsí

- organizace PSD, ukotvení PSD proteinů, lokalizace translace

- hlavní cytoskelet v synapsích

LTP – zvyšuje poměr F-aktinu vůči G-aktinu

LTD – naopak

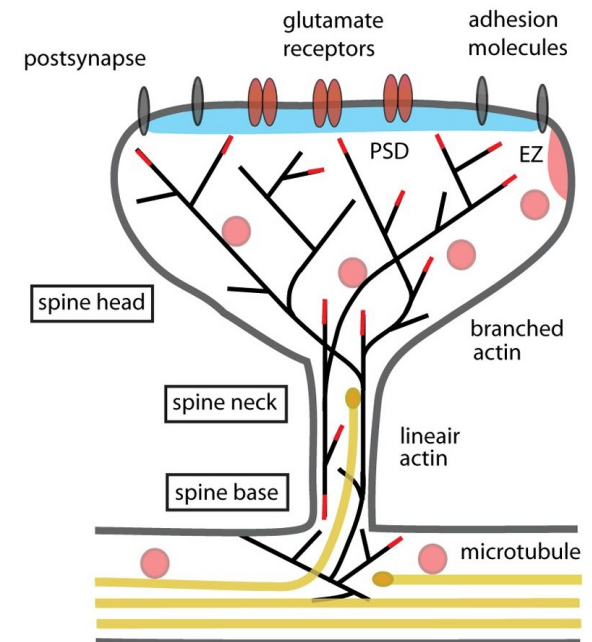
- velká dynamika, větvení v synapsích

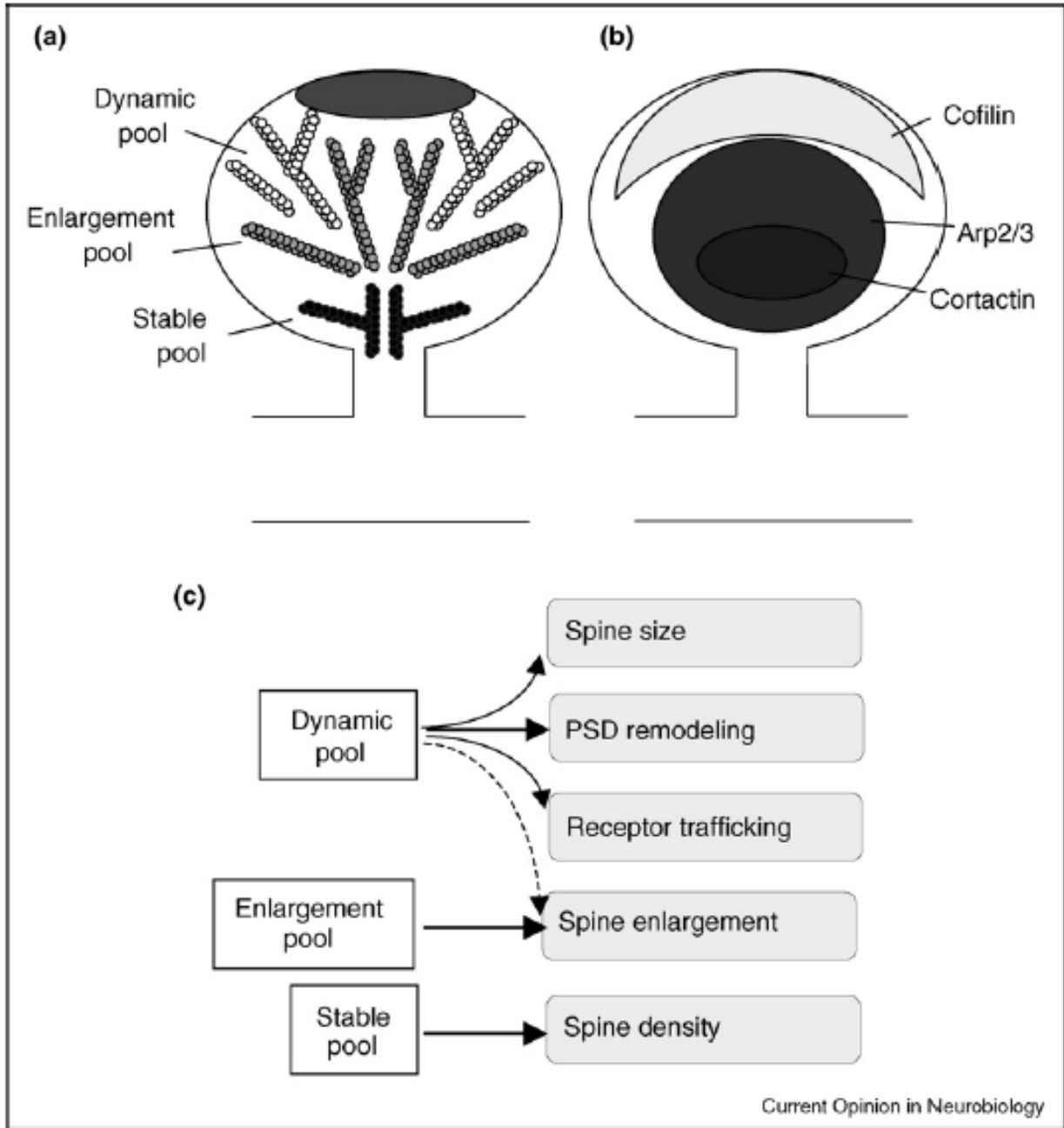
- úloha řady ABPs

- Dynamika – ovlivňována signalizacemi

(NMDAR, AMPAR, G-proteiny, RTKs)

C





Mikrofilamenta a synapse

LTP:

Arc – akumulace v dendritech v blízkosti synapsí (i jeho mRNA v dendritech u aktivních synapsí)

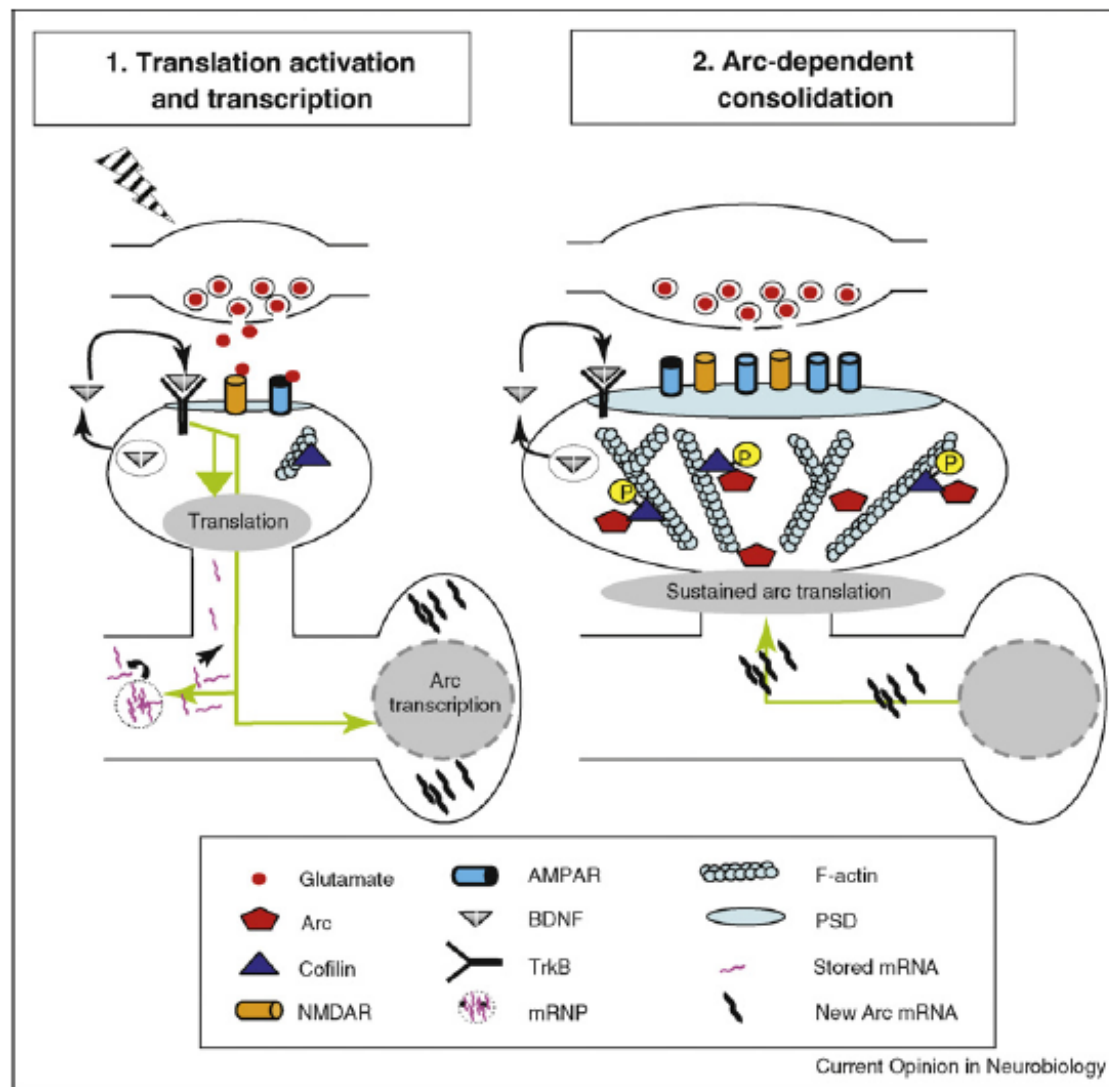
- link mezi stimulací synapse a proteosyntézou/přestavbou synapse

- regulace endocytózy AMPAR

- KO – problémy s pozdní fází LTP a dlouhodobou pamětí u myší – konsolidace LTP

- exprese Arc – vede k expanzi F-aktinu – přestavba synapse – dlouhodobá paměť

- inhibice polymerizace aktinu – blokuje LTP udržení (dlouhodobou paměť)



Model of Arc-dependent LTP consolidation in the dentate gyrus. In this two-stage model, translation activation is followed by Arc-dependent consolidation. *Translation activation.* High-frequency stimulation (HFS; lightning bolt) causes activation of postsynaptic NMDA receptors (NMDAR) and TrkB receptors leading to local translational activation as well as Arc transcription. Translation is modulated through regulation of translation factor activity, mobilization of mRNA (e.g. α CaMKII) from messenger ribonucleoprotein particles (mRNP) and fine-localization of the translational machinery. *Arc-dependent consolidation.* Arc mRNA is transported to dendrites and translated in activated spines. Sustained translation of dendritically transported Arc is necessary for cofilin phosphorylation and local F-actin expansion. Figure adapted from reference [1]. TrkB, Tropomyosin-related kinase B.

Intermediární filamenta

- rodina proteinů se strukturou head-rod-tail, průměr 10 nm
- specifická exprese v buňkách určitého typu a v určitém stádiu diferenciaci



Intermediární filamenta

Table 13.2 Intermediate filament proteins

Class	Proteins	Mass (kDa)	Distribution
I	Acidic cytokeratins	40–64	Epithelial cells
II	Basic cytokeratins	52–68	Epithelial cells
III	Vimentin	55	Mesenchymal cells Immature neuronal and glial cells
	Desmin	53	Muscle cells
	GFAP	51	Astroglia cells
	Peripherin	57	PNS neurons
IV	NF-L	68	Neurons
	NF-M	145	Neurons
	NF-H	200	Neurons
	α -internexin (NF-/66)	66	CNS neurons
V	Lamins	62–72	All cells
VI	Nestin	240	CNS neural stem cells

Intermediární filamenta

Neuroblasty – exprimují vimentin, který během diferenciacce nahrazen neurofilamenty

- některé vyvíjející se neurony - alpha-internexin, peripherin, většina nestin

- neurofilamenta hodně v axonech (více než jiný typ cytoskeletu)

- množství neurofilament – vliv na průměr axonu a rychlost vedení vzruchu

- fosforylace neurofilament spojená s myelinizací

IF III - dynamická struktura – regulace fosforylací, fosforylace ovlivňuje i jejich stabilitu

IF IV – dynamika menší – ještě zmenšená po maturaci axonů (tam naopak značná stabilita)

- fosforylace ovlivňuje i jejich transport a citlivost k proteázám (calpain)

KO myši v NF-M – axony s menším průměrem (NF regulují radiální růst axonů)

- snížení konduktivity axonů

- s věkem progresivní atrofie axonů motorických neuronů v míše

– neurofilamenta důležitá pro strukturní integritu některých axonů při stárnutí

Table 1 Summary of proteins interacting with neurofilaments

Partners	Known or possible functions	References
Fodrin (brain spectrin)	Interaction cytoskeleton-organelle	[455, 456]
G-actin	Maintenance of the neuronal structure	[457]
H1 histone	DNA synthesis regulation	[237]
Hamartin	NF-actin interaction	[458]
MAP2	Cross-bridging between NF and MT	[30, 210]
NUDEL	NF assembly	[43]
STOP	NF-tubulin interaction	[219]
Synapsin I	Interaction NF-non-secretory vesicle	[227, 228]
Tubulin	Cytoskeletal integrity	[18, 122]
Kinases-phosphatases		
CaMKII	Phosphorylation of N-terminal domain of NFL	[97]
Casein kinase I and II	Phosphorylation of C-terminal domain of NFL and NFM	[91, 129–135]
Cdk5	Phosphorylation of KSP motifs of NFM and NFH (preferentially human NFH)	[114–121]
Erk1/2	Phosphorylation of KSP motifs of NFM and NFH	[120]
GSK3	Phosphorylation of KSP sites in NFM and NFH	[117, 124]
PKA, PKC, PKN	Phosphorylation of N-terminal domain of NFL, NFM and NFH	[18, 36, 37, 40, 80]
SAPK	Phosphorylation of C-terminal domain of NFH under stress-activated conditions	[123, 125, 127]
PP1 and PP2A	Dephosphorylation of NFs	[142]
Molecular motors		
Dynein	NFs axonal transport	[222, 223]
Kinesin	NFs axonal transport	[220, 221, 317, 319]
Myosin	Myosin Va NFs axonal transport	[459]
Receptor		
D(1) dopamine receptor	Regulation of cell surface expression and desensitization	[460]
NMDA receptor subunit NR1	Anchoring or localization	[355]
Other		
DNA–RNA	DNA synthesis regulation	[176, 177]

Mikrotubuly

- průměr 25 nm
- heterodimer z alpha a beta-tubulinu
- polarizace (plus a minus end)

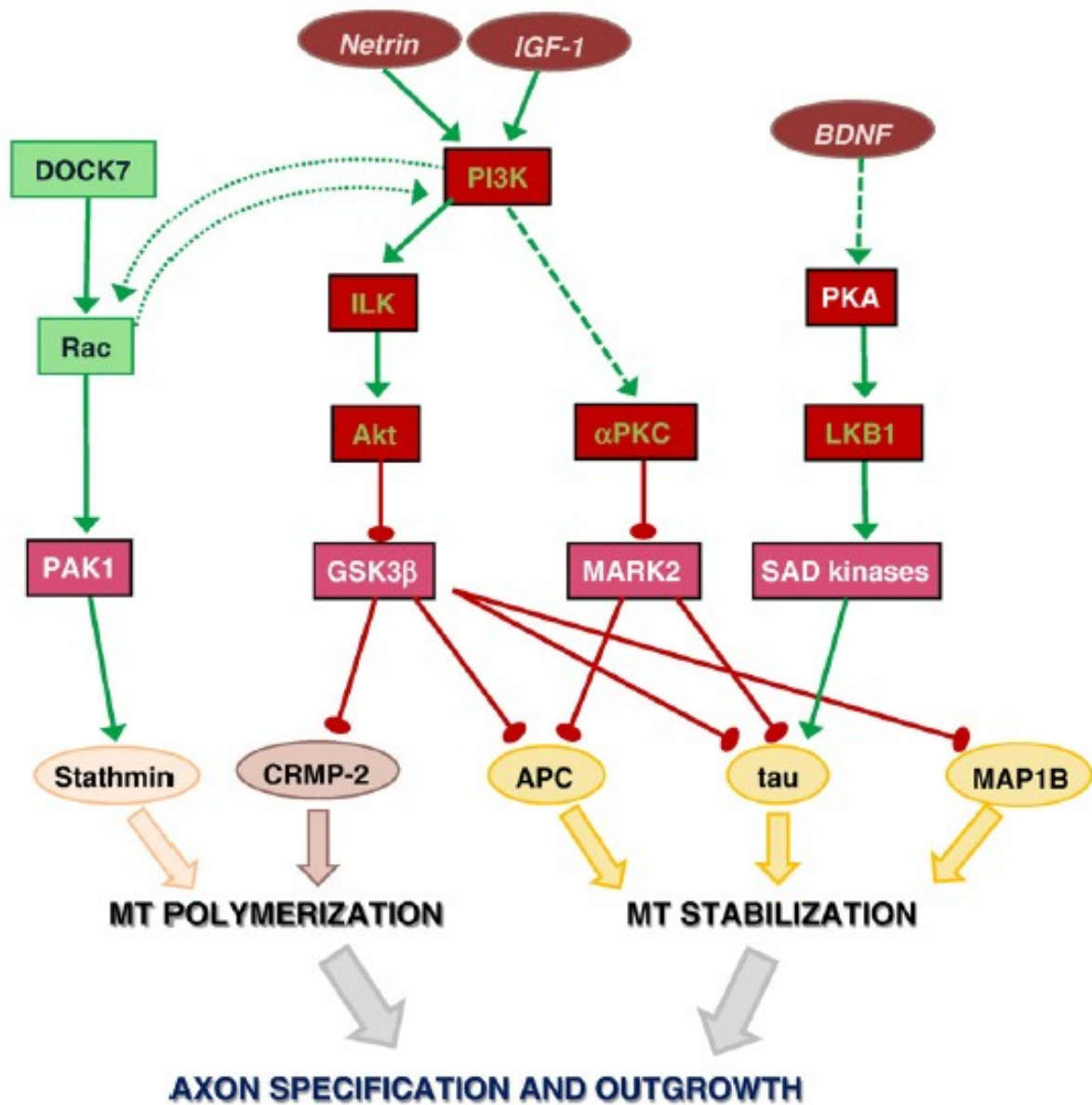
savci – více izoform pro alfa beta-tubulin (některé neuron-specifické)

- četné posttranslační modifikace – acetylace, fosforylace, polyglutaminace, ...

sGTP-tubulin - klesne li jeho hladina na konci mikrotubulu → rychlá depolymerizace
- zvýší-li se hladina → polymerizace = „dynamická nestabilita“

Treadmiling – polymerizace na + konci a depolymerizace na - konci

- svazky v cytoplazmě neuronů
- jsou klíčové pro morfologii neuronů - látky depolymerizující mikrotubuly – axony a dendrity se stáhnou do těla neuronů
- Inhibitory polymerizace – inhibice růstu neuritů
- Stabilizace mikrotubulů (taxol) – indukce vzniku axon(ů)
- Větvení neuritů
- Transport látek (obousměrný)



Mikrotubuly

Microtubules-binding proteins

– proteiny podporující sestavování a stabilizaci mikrotubulů

MAP proteiny - regulace fosforylací

MAP1B – exprese během diferenciaci neuronů a růstu axonů, pak mnohem méně
- KO myš embryonální letalita
- snížená exprese u myši – poruchy ve vývoji NS

MAP2 – více izoform

- vysokomolekulární forma pouze v dendritech (selektivní transport mRNA)

tau – nízkomolekulární forma jen v CNS, vysokomolekulární v periferní NS

- převážně v axonech, podélná stabilizace mikrotubulů
- hyperfosforylace v některých patologiích

DCX a LIS1 – mutace – poruchy migrace neuronů

Table 13.3 Major microtubule-binding proteins

Protein	Properties
<i>Assembly-promoting and microtubule-stabilizing proteins</i>	
HMW-Tau	Present in the peripheral nervous system
LMW-Tau	Abundant in axons of the central nervous system Contributes to microtubule stabilization
MAP-1A	Abundant in dendrites of mature neurons
MAP-1B (MAP5)	Present both in axons and dendrites. Contributes to neural migration and initial neurite outgrowth
MAP-2A, B	Present in cell bodies and dendrites (including dendritic spines)
MAP-2C, D	Present in axon, dendrites and glial cells
MAP-4	Present in glial cells and in immature neurons
DCX	Contributes to neuronal migration
LLS1	Contributes to neuronal migration
<i>Microtubule end-binding protein</i>	
CLIP-170	Attachment of microtubules to endosomes
APC	Attachment of microtubules to cell cortex
EB1	Attachment of microtubules to cell cortex
<i>Microtubule-destabilizing proteins</i>	
OP18/stathmin	Highly abundant. Favors microtubule destabilization

Microtubule-activated ATPases

Dyneins	Move organelles from 'plus' to 'minus' ends of microtubules
Kinesins	Move organelles from 'minus' to 'plus' ends of microtubules

Proteins anchoring microtubules to membrane receptors

Gephyrin	Binds glycine receptors
----------	-------------------------

Table 13.3 (continued) Major microtubule-binding proteins

Protein	Properties
Signaling proteins interacting with microtubules	
JNK (SAPK)	Jun amino-terminal kinase (stress-activated protein kinase)
ERK (MAPK)	Extracellular regulated kinase (mitogen-activated protein kinase)
GSK-3	Glycogen synthase kinase-3
PP2A	Protein phosphatase 2A
Heterotrimeric G proteins	Bind tubulin
GEF-H1	Rho guanine nucleotide exchange factor. Regulates Rho protein and actin dynamics

Mikrotubuly

- molekulární motory – mikrotubuly-aktivované ATPázy - kinesiny, dyneiny
- proteiny ukotvující mikrotubuly k membráně – role při klustrování GABA_C receptorů
- vazba signálních proteinů – kinázy, fosfatázy, G-proteiny
- u neuronů i signalizace na dlouhou vzdálenost

- složky cytoskeletu jsou navzájem propojené – dynamická síť

Cytoskelet a polarita neuronů

Axony – mikrotubuly plus koncem k terminálu

Dendrity – smíšená polarita (hlavně v proximální části)

Table 13.4 Major differences between axons and dendrites

Axons	Dendrites
Uniform calibre	Tapered morphology
Few branches	Highly branched
Lack of polyribosomes	Presence of polyribosomes
Fast growth	Slow growth
Abundance of neurofilaments	Abundance of microtubules
Uniform polarity of microtubules	Mixed polarity of microtubules
Narrow spacing between microtubules	Wide spacing between microtubules
Abundance of tau protein	Presence of MAP2A, B
Presence of $\alpha\gamma$ spectrin	Presence of $\alpha\beta$ spectrin
Highly phosphorylated NF-M and NF-H	Nonphosphorylated NF-M and NF-H

Transport proteinů v neuronech

- často na velké vzdálenosti – tělo neuronu – 50 μm
 - nejdelší axony – i více než 1 m
- porucha transportu a jeho regulace → choroby

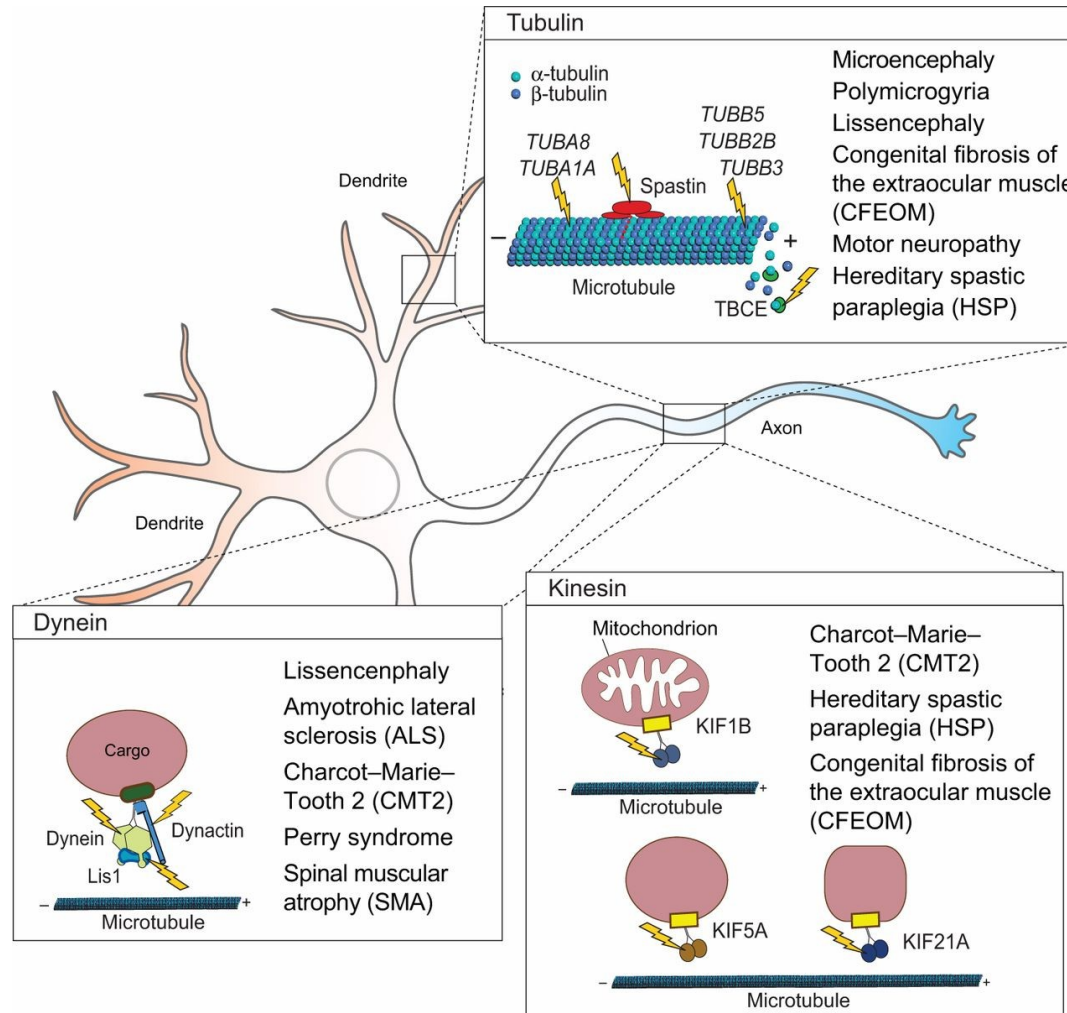


Table 1. Mutations in transport proteins underlying neurological disorders

Mutant protein	Functional role	Functional defect	Disease	Reference
Mutations in motors				
DYNC1H1 (dynein)	Vesicular and organelle transport	Defects in neuronal migration; late-onset motor neuron degeneration	Lissencephaly; Charcot–Marie–Tooth disease 2 (CMT2); Perry syndrome; Spinal muscular atrophy	(Braunstein et al., 2010; Harms et al., 2010; Weedon et al., 2011; Willemsen et al., 2012)
KIF5A	Vesicular and organelle transport	Impaired axonal transport	Hereditary spastic paraplegia (SPG10); CMT2	(Crimella et al., 2012; Fügler et al., 2012)
KIF1B	Synaptic vesicle transport, mitochondrial transport	Reduced transport of synaptic vesicle proteins	CMT2	(Gentil and Cooper, 2012; Zhao et al., 2001)
KIF21A	Axonal transport of K ⁺ -dependent Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger (NCKX2)	Atrophy of ocular motor muscles	Congenital fibrosis of the extraocular muscle (CFEOM)	(Desai et al., 2012; Lee et al., 2012)
Motor adaptor and regulator protein mutations				
DCTN1/p150 ^{glued} (dynactin)	Dynein regulation	Impaired axonal transport; axonal swelling; synapse retraction	Motor neuron disease; amyotrophic lateral sclerosis (ALS); Perry syndrome	(Newsway et al., 2010; Stockmann et al., 2012; Uribe, 2010)
LIS1 (PAFAH1B1)	Coupling of nucleus to centrosome during neuronal migration; dynein regulator	Impaired neuronal migration; reduced axonal transport	Lissencephaly	(Mokánszki et al., 2012)
Cytoskeletal mutations				
TUBA1A	α -tubulin isoform	Neuronal migration	Lissencephaly	(Cushion et al., 2013; Hikita et al., 2013; Tischfield et al., 2011)
TUBA8	α -tubulin isoform	Local cell positioning during cerebral cortical development	Polymicrogyria with optic nerve hypoplasia	(Abdollahi et al., 2009; Tischfield et al., 2011)
TUBB2B	β -tubulin isoform	Neuronal migration	Asymmetrical polymicrogyria	(Cushion et al., 2013; Romaniello et al., 2012; Tischfield et al., 2011)
TUBB3	β -tubulin isoform (neuron specific)	Neuronal migrations and axon guidance defects	CFEOM Facial paralysis Late-onset axonal sensorimotor polyneuropathy	(Poirier et al., 2010; Tischfield et al., 2011)
TUBB5	β -tubulin isoform	Neuronal migration	Microcephaly	(Breuss et al., 2012)
TBCE	Tubulin chaperone	Impaired maintenance of microtubules in motor axons	Progressive motor neuropathy	(Martin et al., 2002; Schaefer et al., 2007)
SPG4 (spastin)	Microtubule severer	Synaptic growth and neurotransmission defects	Hereditary spastic paraplegia	(Magariello et al., 2013; Nanetti et al., 2012)

Cytoskelet a neurodegenerativní choroby

aberrantní akumulace některých cytoskeletárních proteinů

porucha cytoskeletu – poruchy transportu, signalizací

- mitochondriální dysfunkce, oxidativní stres, až smrt neuronů

Tautopatie – heterogenní skupina demencí

- depozity tau bez depozitů beta-amyloidu (oboje je Alzheimer)

- neurodegenerace

- i mutace v tau genu – konformační změna

- změny ve fosforylaci

Amyotropická laterální skleróza (ALS)

- degenerace motorických neuronů – paralýza

- abnormální akumulace neurofilament

Charcot-Marie-Tooth disease 2 (CMT2) – mutace NF-L, mutace v KIF1Bbeta

- porucha axonového transportu - neurodegenerace

Transport proteinů v neuronech

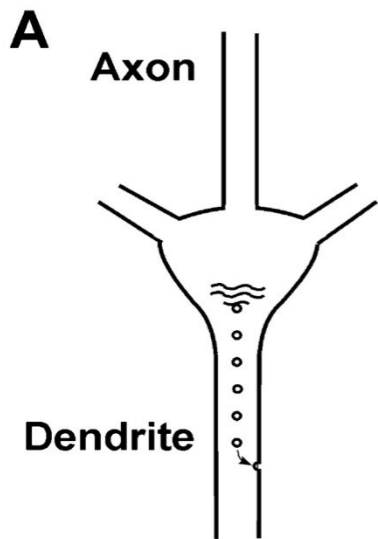
Regulace na úrovni ER

- receptory a iontové kanály – složeny z podjednotek – některé kombinace podjednotek zůstávají v ER – např. GABA receptory (pentamer ze 16 možných podjednotek) – 16^5 možných kombinací, v buňce jen 20-30 kombinací, některé kombinace zadržovány v ER
- ER chaperony – interakce s hydrofobními doménami proteinů (normálně nejsou na povrchu) → zadržení v ER → oprava nebo degradace
- proteiny mohou nést ER retenční signály – (RxR signál) – dostupnost regulována fosforylací nebo může být zamaskován vazbou správné podjednotky
- proteiny mohou nést také ER exportní signály (dileucine, diphenylalanine)
 - mutace těchto signálů – transport/retence z/v ER

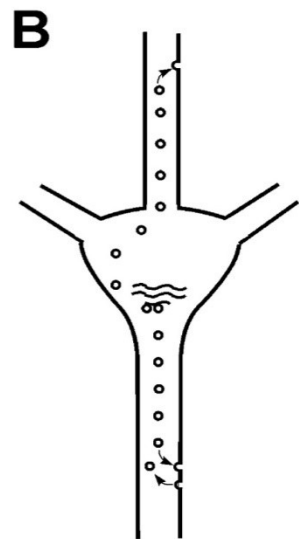
Transport proteinů v neuronech

Polarita

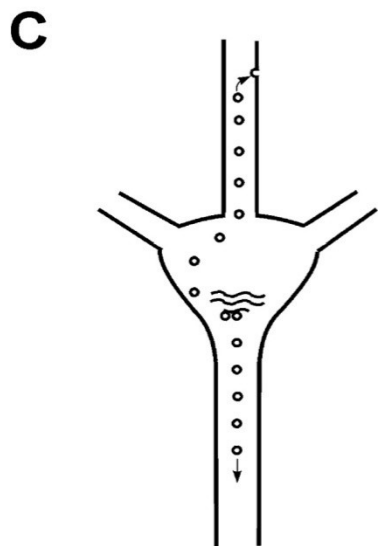
- vývoj - růst neuritu nepolarizovaného neuronu (neurity mají axonové i dendritické markery),
 - následná exprese specifických markerů
- dendrity a axony vykonávají různé funkce – různé proteiny
- pro vývoj polarity důležitá AIS (axonal initial segment) bariéra
 - aktinová síť (+ spectrin a ankyrin), vysoká koncentrace proteinů
 - snížená rozpustnost, snížená prostupnost pro proteiny
 - narušení aktinové sítě – ztráta schopnosti selektovat transport
 - pokusy s dextranem – jen molekuly o určité velikosti projdou do axonů



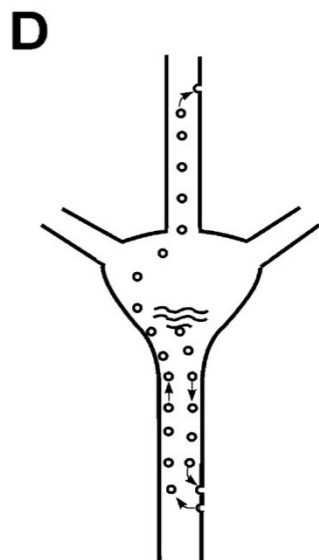
Polarized Vesicular Trafficking
(TfR, Kv4.2, Kv1)



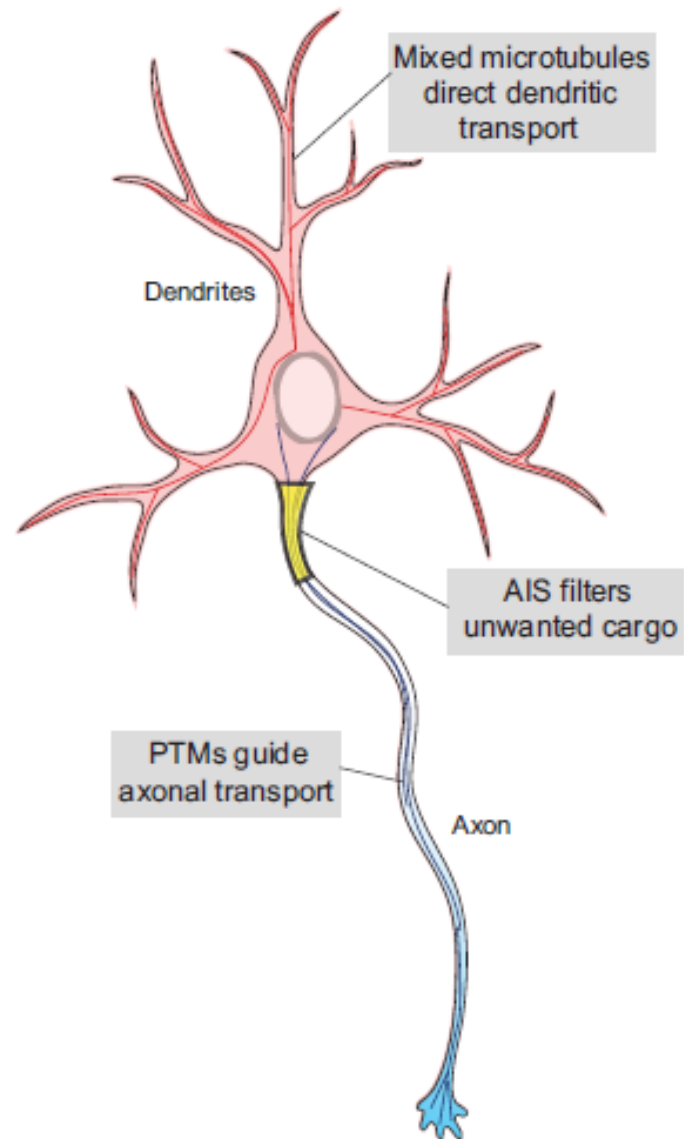
Compartment-specific
endocytosis
(Na_v1.2, VAMP)



Compartment-specific
vesicle docking
(NgCAM)

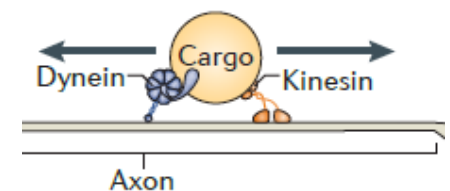
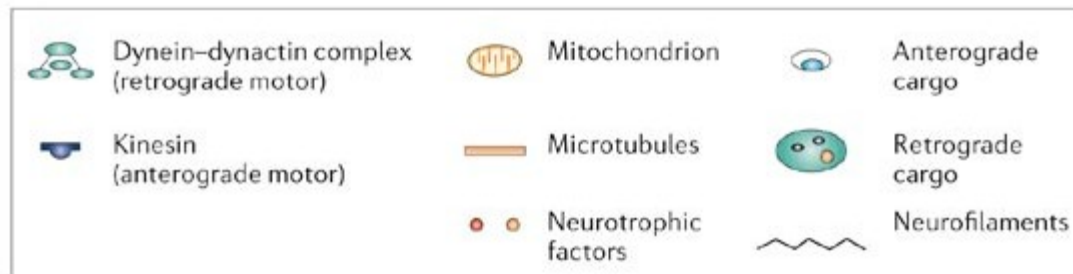
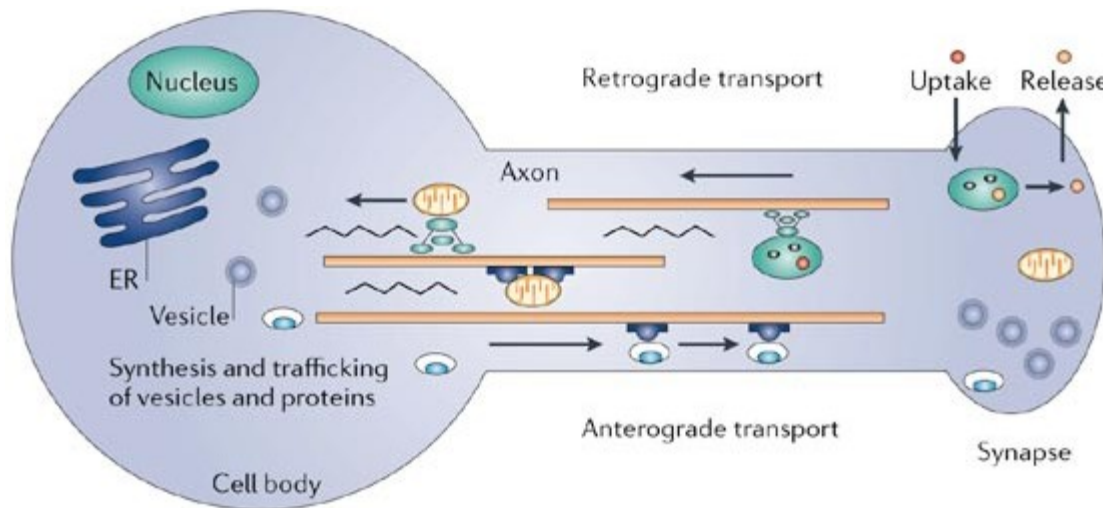


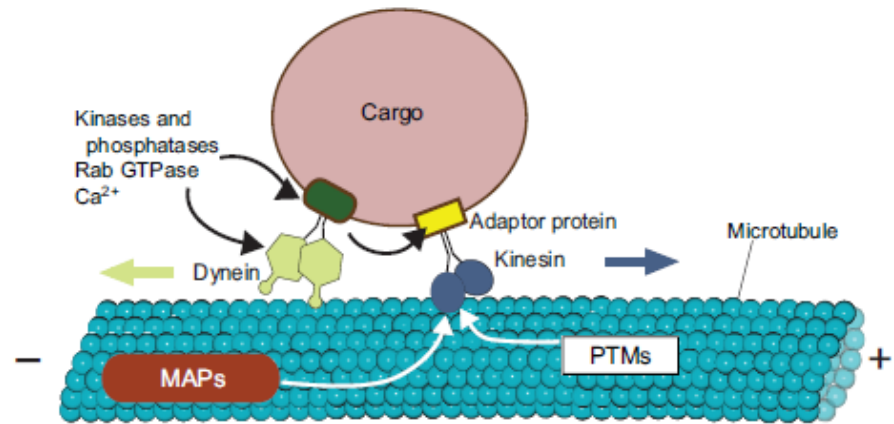
Transcytosis
(NgCAM)



Transport proteinů po síti mikrotubulů

- v dendritech obousměrné (plus i minus konce)
- v axonech plus konec směrem ke konci – i jen několik málo opačně orientovaných vláken mikrotubulů – množství se liší ve vývoji, plasticitě ...
- pokud váček s proteiny se naváže na dynein (motor směřující k minus konci)
 - transport do dendritu
- vazba na kinesin – do dendritu i do axonu





Signály pro polaritu (specifické i nescifické)

- axonal exclusion a axonal targeting signály
- dileucinové signály, YxxO, NPxY – sortování do specifických váčků – ty asociace s určitým typem molekulárního motoru
- palmitoylace, navázání AP1 clathrin komplexu, interakce s lipidy
- někdy stejný signál a u různých proteinů různá lokalizace - důležitá i kombinace signálů
- kromě signálů pro transport i signály pro endocytózu (některé typy Na kanálů) a docking

Specifické transportní proteiny

- specifické transportní proteiny receptorů pro neurotransmitery (GABA, NMDA a AMPA)
- GABA receptor-associated protein – interaguje s $\gamma 2$ podjednotkou GABA a tubulinem – role při sortování GABA receptoru do transportních váčků → transport po mikrotubulech
- proteinové interakce - homer proteiny – homer 1b+mGluR5 do dendritů
homer 1a+mGluR5 do axonů i dendritů

Transport mRNA v neuronech

mRNA targeting – ekonomičnost proti protein targetingu
– z 1 molekuly mRNA mnoho molekul proteinu

v tělu neuronů asi 10000 mRNA x v dendritech jen 400

- v dendritech (i axonech) ribozomy a lokální proteosyntéza
- existence specifických adaptorových proteinů – napojení mRNA na molekulární motory (ribonucleoprotein particles RNPs – až 42 proteinů)
- regulační nekodující sekvence mRNA důležité pro targeting (5' i 3' konec)

Trans-acting factors (TAF) – pr. Staufen, FMRP, ZBP1 proteiny – vazba na mRNA i na motory (kinesiny, myosiny)

Transport – CamKII, Arc, beta-actin, MAP2 ...

Možnost dodání mRNA i trans-endocytózou z gliových buněk

Transport proteinů v neuronech

Transport axonem

rychlý (20-40 cm/den) – velké sekretorické váčky (neuropeptidy), membránové proteiny

- podél mikrotubulů – kinesiny (k plus konci)
 - dyneiny (k minus konci)
- podél aktinu – myosiny

střední (5-10 mm/den) – mitochondrie podél mikrotubulů

pomalý (1-8 mm/den) – transport složek cytoskeletu, malé sekretorické váčky

- typu A (do 1 mm za den) – neurofilamenta a mikrotubuly
- typu B (2-8 mm za den) – mikrotubuly a mikrofilamenta
 - cytoskeleton-asociované proteiny
- pohyb složek NF – kinesiny
 - regulace jejich fosforylací
 - cykly – rychlý pohyb a pak pauza

zpětný transport – materiál endocytovaný ze synaptické štěrbin, růstové faktory ...

- některé organely – bidirectional transport
(mitochondrie, sekretor. váčky ...)

Molekulární motory

ATPázy – mikrotubuly – kinesiny, dyneiny
- mikrofilamenta – myosiny

Kinesiny – pohyb od minus konce k plus konci

- 45 genů v lidském genomu (Kinesin superfamily proteins) – 38 exprimováno v mozku
- liší se ve tom co schopny přepravovat (KIF5B – lysosomy, mitochondrie)
KIF1A – prekursor synapt. váček

- některé kinesiny jen do dendritů (DN KIF5 – neurony s více axony)

- specifitu ovlivňují i „linking“ proteiny

kinesin I – s JIP proteiny – váčky s LDL receptory

s APP – váčky s beta-sekretázou, presenilinem,
synapsinem

Molekulární motory

Dyneiny – od plus k minus konci mikrotubulů

- specifita přenosu dána s dyneinem-asociovanými polypeptidy

(ARP1 – interakce se spektrinem – transport synaptických. váčků)

- důležitý ve vývoji NS – migrace neuronů a axon pathfinding

