

סדנא לפרויקטים - ביולוגיה חישובית 89385

ניתוח היחסים בין E2F1 ל E2F7-8 **ברקמות בריאות וסרטניות**

מנחים:

ד"ר עמית צור
בליווי חישובי של פרופ' רון אונגר

שם המגישות:

לינוי מנדה ומישל אידלמן

תוכן עניינים

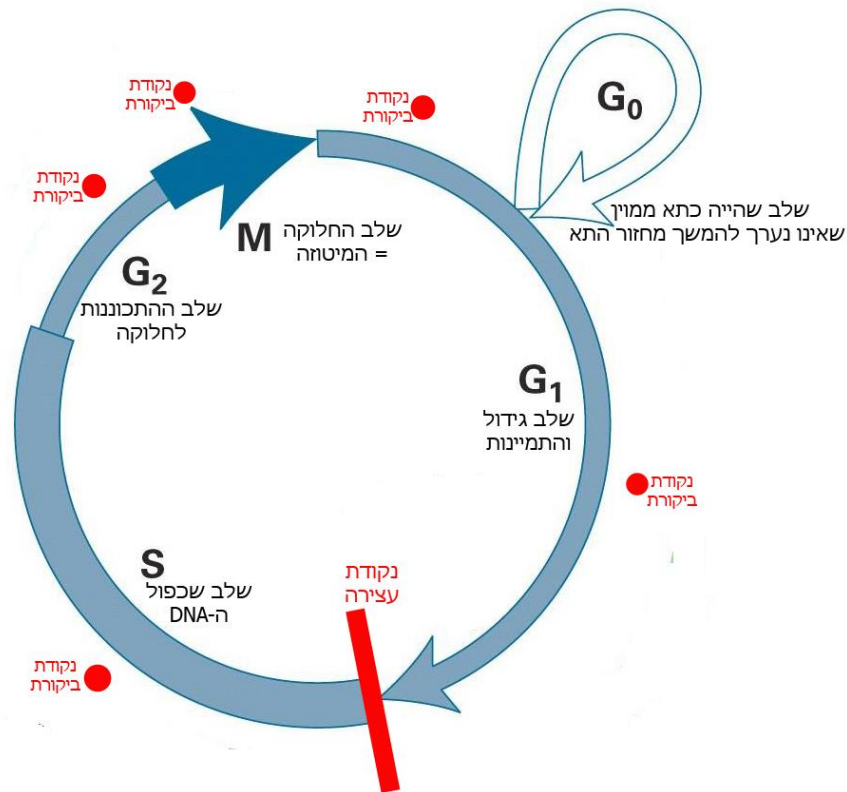
3.....	תקציר
7.....	מטרת הפרויקט
8.....	שיטות עבודה
10.....	תוצאות
13.....	מסקנות
14.....	נספחים
24.....	ביבליוגרפיה

תקציר

בפרויקט זה עסקנו בניתוח היחסים בין הגנים E2F1 ל-E2F7 ו-E2F8 ברקמות בריאות מול רקמות סרטניות. גנים אלו משתתפים ברגולציה של מחזור התא, ולכן ההבנה אם מתקיים חוסר צימוד בין E2F1 ל-E2F7 ו-E2F8 עשויה לתרום בחקר תהליכים של מחזור התא וביניהם תהליכים סרטניים.

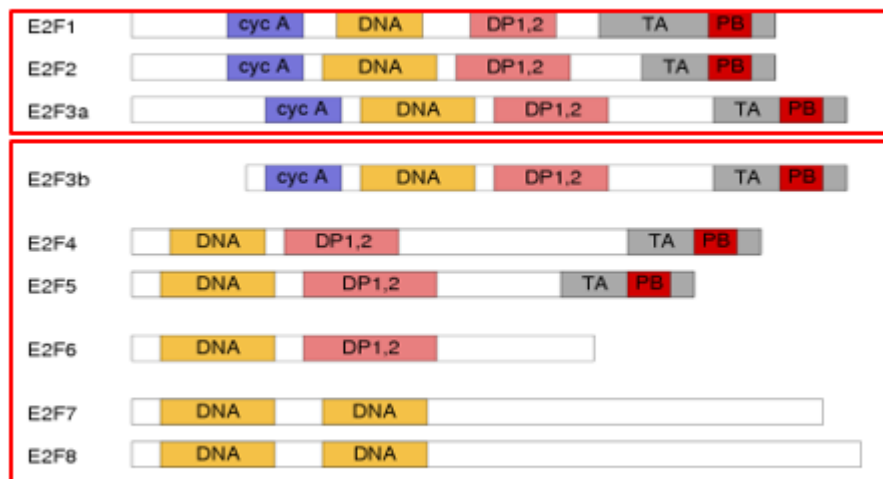
מבוא – רקע ביולוגי וחשובי

מחזור התא הוא רצף אירועים המתרחשים במהלך חיו של תא מרגע היווצרותו מתא ההורה עד אשר התא מתפצל לשני תאי בת. סדרת התהליכים נחשבת מחזורית כיוון שהיא מתחדשת שוב ושוב מחלוקה לחלוקה. מחזור התא בנוי מכמה שלבים : - שלב G1 : בשלב זה התא מבצע את התפקיד לו הוא מיועד. בנוסף לביצוע תפקידו הוא מכין את עצמו להכפלת DNA ולכן נפחו גדל, מתבצע בו מטבוליזם נמרץ, וכמות החומרים בו (חלבונים, RNA ועוד) גדלה כמעט פי שניים. במהלך שלב זה התא יכול לעבור לשלב G0, שלב בו יש שהייה של מחזור התא. שהייה זאת הפיכה והתא יכול לחזור לשלב G1 להמשך חלוקה. - שלב S3 : בשלב זה מתקיים הכפלה של החומר התורשתי בגרעין. - שלב G2 : בשלב זה לאחר שהתא הכפיל את DNA, הוא מתכוון לחלוקה. שלושת השלבים G1, S, G2 נקרים יחד שלב האינטרפאזה, שלב זה הוא השלב הארוך ביותר במחזור התא. - שלב M : בשלב זה תתבצע החלוקה בהתאם לסוג התא. בתאים סומטים תתבצע מיטוזה ובתאי מין תתבצע מיוזה. (בשלב זה התייחסנו ליצורים איקריוטיים בהתאם לפרויקט שלנו).



מחזור התא הוא אחד התהליכים החשובים ביותר בהבנת התפתחות של יצורים ולכן הוא חייב להיות מבוקר בכמה רמות. אחת מהרמות בקרה שלו היא ברמת הטרנסקריפציה ומשפחת הגנים E2F היא זאת שלוקחת חלק גדול בבקרה. E2F הם משפחה של גנים המקודדים לפקטורי שעתוק שמשתתפים ברגולציה של מחזור התא. ישנם 8 גנים E2F1-E2F8 המקודדים ל-10 חלבונים (E2F3 מקודד לשני חלבונים שונים עקב Alternative promoter, והגן E2F7 מקודד לשני איזופורמים עקב Alternative splicing). משפחת E2F כוללת מאקטיבי שעתוק ומעכבי שעתוק. E2F-1, E2F-2, E2F-3a ידועים כמאקטיבי שעתוק של גנים הנחוצים לפרוליפרציה של מחזור התא, בעוד ש E2F-3b, E2F-4, E2F-5, E2F-6 ידועים כמעכבי שעתוק.

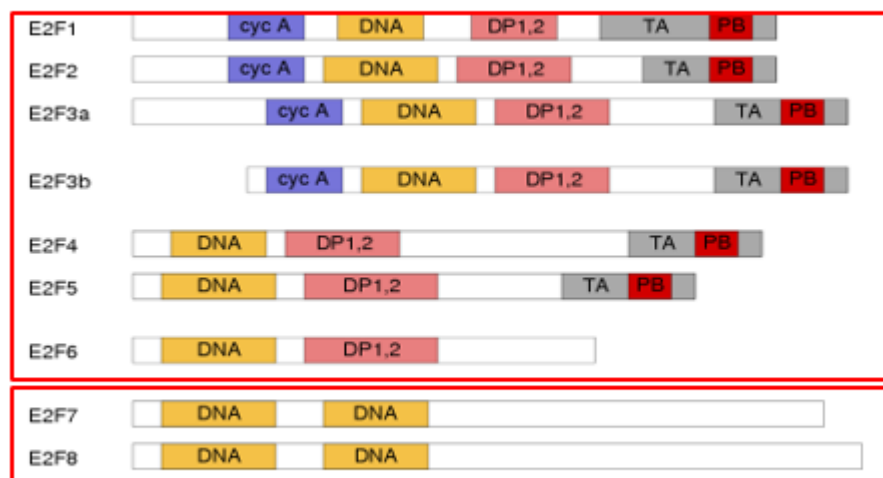
Activators



Inhibitors

תא שנמצא בשלבים G1-S מבוקר ע"י הגנים E2F1,2,3.
 תא שנמצא בשלבים G2-M מבוקר ע"י הגנים E2F7,8.
 תא שנמצא בשלבים G0 מבוקר ע"י הגנים E2F4,5.
 E2F7, E2F8 גם ידועים כמעכבים, אך הם שונים בשל יכולתם לעכב תעתיקים של E2F1.
 למשפחת E2F ישנה חלוקה נוספת ל"קלאסיים" (classical) ול-"לא טיפוסיים" (atypical).
 E2F1–6 נחשבים -"קלאסיים", ו-E2F7-8 נחשבים –"לא טיפוסיים".
 השוני בין הסוגים ה"קלאסיים" לסוגים ה"לא טיפוסיים" מאופיינים בשינוי מבני.

Classical



Atypical

ה'קלאסיים' מאוקטבים ע"י דימריזציה עם חלבונים DP 1-3, לעומתם ה'לא טיפוסיים' חסרי איזור הקישור לדימריזציה, ולכן הם מאוקטבים ע"י הומודימריזציה או הטרודימריזציה אחד עם השני.

בשונה מ-E2F 4-6, E2F-3b, חברי הקבוצה E2F 7-8 מדכאים את התהליך כאשר קיימת עליה ברמת הפרוליפרציה של התא.

למעשה E2F 7-8 הם מטרות ישירות של E2F 1. נקודה מעניינת היא שרמות גבוהות של E2F-1 יכולות להוביל לאפופטוזיס ולכן E2F 7-8 משחקים תפקיד מרכזי בצומת דרכים בין שגשוג והתרבות התא לבין מוות תאי.

על מנת להבין את היחסים בין הגנים של E2F1, E2F7, E2F8 נעשה מחקר בו הראו כי שלאחר ביצוע נוקאאוט בעכברים עבור הגן E2F7, העכברים המשיכו לחיות. באופן דומה גם עבור נוקאאוט בגן E2F-8 העכברים המשיכו לחיות. אך לאחר נוקאאוט עבור שני הגנים E2F7-8 העכברים מתו E2F 7-8. אחראיים על דיכוי E2F1 שאחראי על אקטיבציה של מחזור התא ולכן לאחר ביצוע הנוקאאוט, ביטוי יתר של E2F1 יוביל לאפופטוזיס. מכאן ניתן להסיק שלגנים אלו חשיבות רבה בבקרה של מחזור התא.

מטרת הפרויקט

מטרת הפרויקט היא לבדוק האם והיכן מופר האיזון בין רמות הביטוי של E2F1 לבין E2F7-8 ברקמות בריאות מול רקמות פתולוגיות.

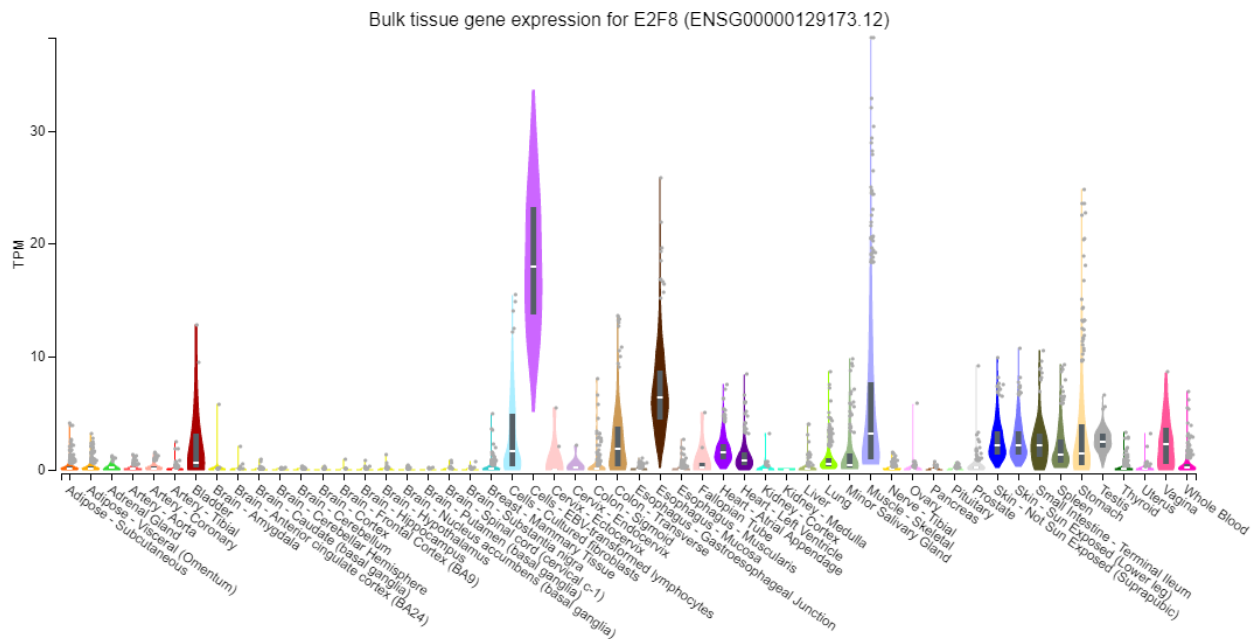
על מנת להבין תהליכים מרכזיים בהתפתחות יצורים יש תחילה להכיר את הבסיס בחקר מחזור התא. מחזור התא הינו תהליך מורכב שמבוקר ע"י גורמים רבים ובשנים האחרונות נעשים מחקרים על מנת להבין תהליכים אלו. פגיעה בתהליכי הבקרה של מחזור התא, עלולה להוביל לחלוקת תאים מרובה וכתוצאה מכך לסרטן, לכן למטרת הפרויקט ישנה חשיבות מדעית.

משפחת פקטורי השעתוק E2F הם חלק מרכזי בבקרה של מחזור התא ולכן מחקרנו עוסק בניתוח היחסים ובבדיקת ההשפעה של חברי הקבוצה אחד על השני.

שיטות עבודה

Gtex portal .1

האתר מספק תצוגה ויזואלית של רמות הביטוי בגנים ממשפחת E2F ברקמות שונות. אתר זה עוזר לנו בבחירה ראשונית של רקמות שנרצה לבחור לפרויקט.



UCSC XENA.2

במאגר זה נוכל לייבא נתונים מספריים עבור הגנים השונים ברקמות שבחרנו בשלב הראשוני.

לאחר שבחרנו בשלב הראשוני בעזרת GTEX portal רקמות העשויות להתאים למחקר שלנו, נרצה לראות האם לכל רקמה שבחרנו יש מספיק נתונים על מנת שנוכל לעבוד עם הדגימות של הרקמות שנבחרו. רקמות שבחרנו בשלב הראשוני אך אין עבורן מספיק דגימות או נתונים סוננו בשלב זה.

3. שימוש פקודות בUNIX

הורדנו לשרת קובץ מהdata hubs - שנמצא ב UCSC, XENA המכיל מידע על רמות ביטוי של גנים רבים בדגימות שונות. על מנת לסנן מהקובץ את הגנים של משפחת E2F ברקמות בהן בחרנו, עלנו לבצע עיבוד בשרת Unix.

4. סקריפטים בפיתון

במהלך הפרויקט כתבנו סקריפטים שיעזרו לנו לסדר ולסנן את המידע.

סקריפט Transpose – לשם הנוחות הפכנו את שלושת הגנים שיהיו עמודות, ואת כל הדגימות שיהיו בשורות כדי שיהיה נוח לעבוד עם המידע.

בסקריפט נוסף בצענו התאמה בין מזהה של הדגימה לסוג הרקמה המתאימה – בקובץ המידע כל דגימה מופיעה עם מזהה ייחודי, אך לא מצוין מאיזה רקמה נלקחה הדגימה. על מנת לקשר בין דגימה לרקמה המתאימה בצענו מיפוי בין מזהה הרקמה לשם הרקמה ממנה נלקחה הדגימה (מידע המופיע בקובץ אחר).

כמו כן סיננו רקמות עם לפחות 100 דגימות. בחרנו ערך סף (100) כדי שבהמשך יהיו תוצאות מובהקות ומשמעותיות.

5. מבחן סטטיסטי - מבחן Wilcoxon

מטרת המבחן היא לבדוק האם קיים הבדל ברמות הביטוי של הגנים בין רקמות בריאות לרקמות חולות. בצענו מבחן זה עבור כל גן.

בשאלת המחקר רצינו לבדוק האם והיכן מופר האיזון בין רקמות בריאות לחולות, לשם כך צריך קודם כל לבדוק שבאמת יש איזושהו שוני מובהק בין הרקמות הבריאות לחולות. כלומר האם יש שינוי ברמת ביטוי הגן E2F1 בין רקמות בריאות לרקמות חולות והאם השינוי מובהק סטטיסטית, וכן גם לגבי הגנים E2F7 ו-E2F8. בחרנו להשתמש במבחן זה מכיוון שהוא אינו מניח התפלגות נורמאלית.

6. מבחן סטטיסטי - מתאם פירסון

על מנת לבדוק האם קיים קשר כלשהו בין כל זוג גנים, השתמשנו במדד פירסון הבודק קשרים ליניאריים.

תוצאות

1. תוצאות עבור מבחן Wilcoxon

	E2F1	E2F7	E2F8
	p-value	p-value	p-value
Breast.csv	6.75135E-17	5.29E-22	4.13979E-22
Colon.csv	8.15925E-51	2.07E-50	1.51507E-46
Esophagus.csv	2.95452E-33	2.73E-33	5.79142E-31
Liver.csv	2.15253E-08	0.000226	1.67506E-07
Lung.csv	5.44404E-41	8.01E-42	1.09911E-42
Ovary.csv	7.9891E-16	7.99E-16	7.98849E-16
Pancreas.csv	2.90508E-27	1.05E-22	4.53929E-28
Skin.csv	1.23692E-76	4.07E-66	7.33651E-13
Stomach.csv	4.98167E-27	1.57E-27	2.06252E-21
Testis.csv	2.83222E-19	0.00042	7.13782E-09

ניתן לשים לב שעבור כל התוצאות קיבלנו P VALUE שקטן מ-0.05, מה שמוכיח לנו שקיים הבדל מובהק בין כל סוג של רקמות בריאות לרקמות חולות.

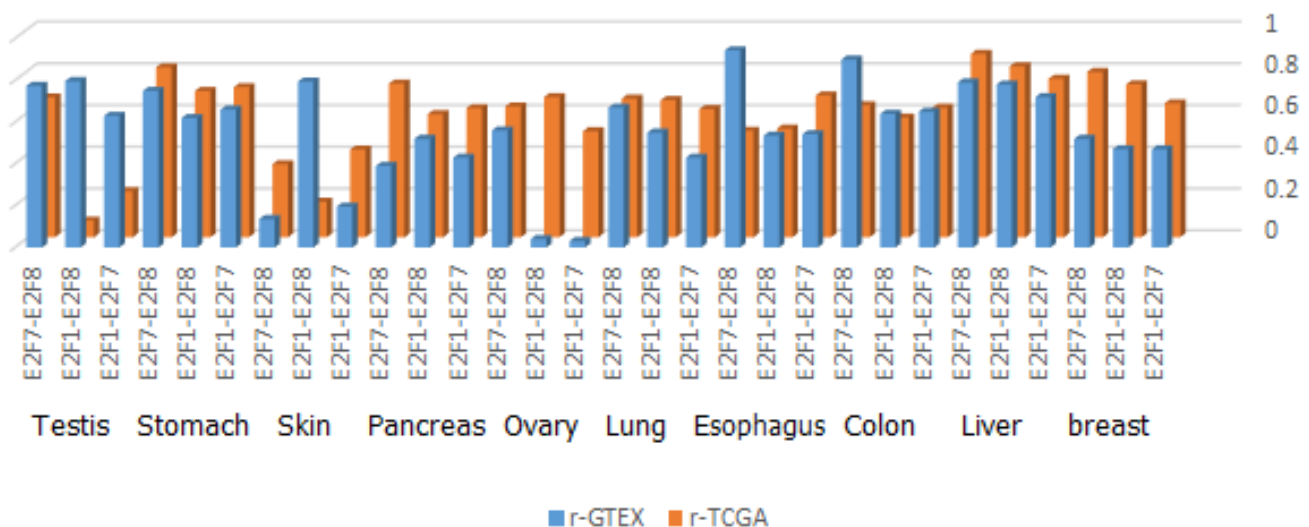
2. תוצאות עבור מתאם פירסון¹
 עבור כל רקמה בריאה או חולה חישבנו את מתאם פירסון.
 על מנת להשוות בין התוצאות של הרקמה הבריאה לרקמה
 החולה צריך שמספר הדגימות בכל רקמה תהיה שווה, דבר שלא
 התקיים קודם לכן. על מנת לתקן זאת, נשלף n דגימות באופן
 רנדומי מהרקמה בה יש יותר דגימות, כאשר n מייצג את מספר
 הדגימות של אותה רקמה שיש ממנה פחות דגימות. נחזור על
 שליפת הדגימות כ-30 פעמים. בסופו של דבר נקבל כ-30 r שונים,
 עבורם נחשב ממוצע ואותם נוכל להשוואות ל r המתקבל עבור
 הקורלציה של הרקמה בה יש פחות דגימות.

	couples	r-GTEX	r-TCGA
Breast	E2F1-E2F7	0.47	0.6420305
	E2F1-E2F8	0.47	0.73254
	E2F7-E2F8	0.52	0.7917829
Liver	E2F1-E2F7	0.72	0.7594093
	E2F1-E2F8	0.78	0.8189298
	E2F7-E2F8	0.79	0.8790472
Colon	E2F1-E2F7	0.65	0.6205165
	E2F1-E2F8	0.64	0.5738767
	E2F7-E2F8	0.9	0.6316837
Ovary	E2F1-E2F7	0.03	0.50799353
	E2F1-E2F8	0.04	0.67134168
	E2F7-E2F8	0.56	0.62668608
Skin	E2F1-E2F7	0.1952485	0.42
	E2F1-E2F8	0.7947253	0.17
	E2F7-E2F8	0.13578102	0.35

¹ הגרפים עבור מתאם פירסון מצורפים בנספח א'

Testis	E2F1-E2F7	0.63035283	0.22
	E2F1-E2F8	0.79682311	0.08
	E2F7-E2F8	0.77446366	0.67

מתאם פירסון עבור רקמות שונות, בריאות וחולות



- ניתן לשים לב לחלוקה של 2 קבוצות, קבוצה ראשונה היא קבוצה המכילה רקמות בהן יש עליה בקורלציה מרקמה בריאה לחולה וקבוצה שניה מכילה רקמות בהן יש ירידה בקורלציה מרקמה בריאה לחולה. לדוגמה:
הרקמה Breast והרקמה Ovary נמצאות בקבוצה הראשונה.
הרקמה Colon והרקמה Testis נמצאות בקבוצה השנייה.
- ברקמה הבריאה של Ovary הקורלציות היו נמוכות מאוד ביחס לשאר הרקמות.
- ברקמה skin קיבלנו גם תוצאות מפתיעות. עבור שאר הרקמות ראינו שמקדם הקורלציה דומה בין E2F1-E2F7 לבין E2F1-E2F8, אולם ברקמת skin יחס זה מופר.

3. מהתוצאה הקודמת הועלתה היפותזה חדשה. ההיפותזה היא שהירידה בקורלציה בין רקמות בריאות לחולות קשורה לרמת הפרוליפרציה של הרקמה. בשביל לבדוק את ההיפותזה, דירגנו את הרקמות השונות לפי רמת הפרוליפרציה שלהן. בחרנו 25 גנים שיודעים כמתבטאים בחלוקת התא, ממוצע רמת הביטוי של הגנים האלו שימשו כניקוד.

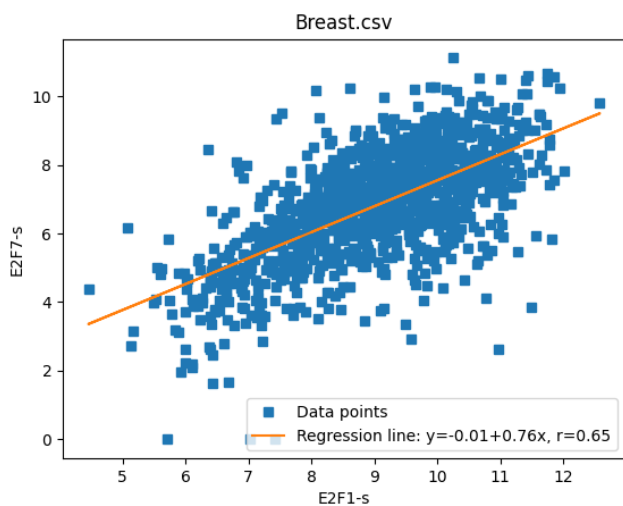
	GTEX	TCGA	score-GTEX	score-TCGA
Breast	5.456546	9.238808	7	8
Colon	6.191279	10.11208	6	5
Esophagus	6.520417	10.58448	3	2
Liver	5.45116	7.972053	8	10
Lung	6.299386	9.350345	4	7
Ovary	5.393637	10.16342	9	4
Pancreas	4.994905	8.438148	10	9
Skin	7.610136	9.676895	2	6
Stomach	6.294634	10.16725	5	3
Testis	10.2427	10.99587	1	1

מסקנות

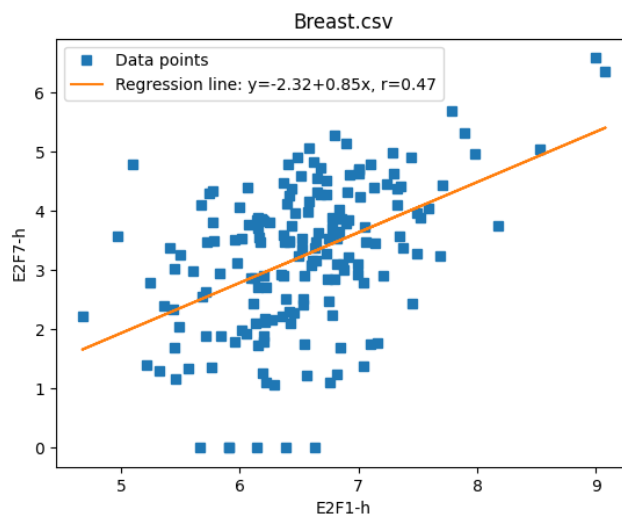
1. כפי שציינו ברקע הביולוגי E2F7-8 פועלים יחד ואחראים על הדיכוי של E2F1. אך עם זאת נראה שברקמת הOvary הבריאה לא קיים קשר בין E2F7-8 לE2F1, דבר שמרמז לנו על אפשרות של הפרת המעגל בין הגנים הללו. זאת אומרת ש E2F7-8 מתבטאים יחד אך לא ע"י E2F1.
2. ברקמת הSkin קיימת הפרה נוספת של המעגל מכיוון שE2F1 מבטא רק את E2F8 ברקמה הבריאה ולא את E2F7.
3. התוצאות תואמות באופן חלקי להיפותזה שהועלתה. מהתוצאות עבור מתאם פירסון ראינו שישנה ירידה גדולה בקורלציה בין רקמה בריאה לחולה ברקמת ה Testis, ואכן בדירוג לפי רמת הפרוליפרציה של הרקמה, היא הרקמה שמתחלקת הכי הרבה. אך עם זאת, גם עבור רקמת הColon ישנה ירידה בקורלציה בין רקמה בריאה לחולה במתאם פירסון אך קיבלנו שהדירוג עבור רמת החלוקה של Colon נמצא באמצע הרשימה.

נספחים נספח א'

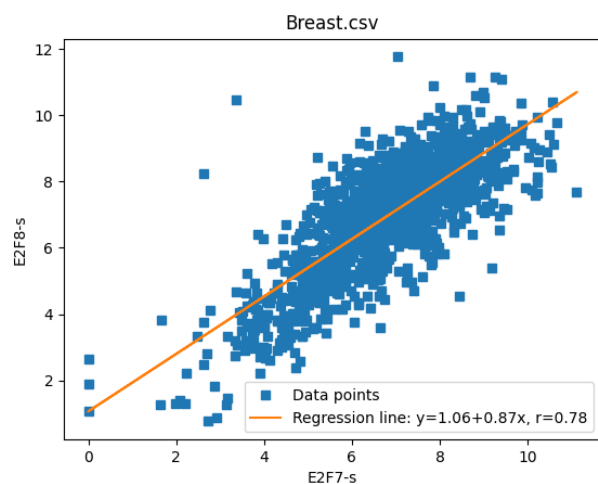
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



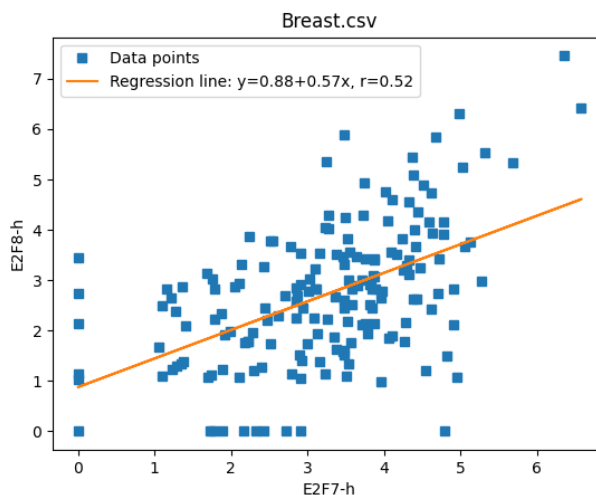
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



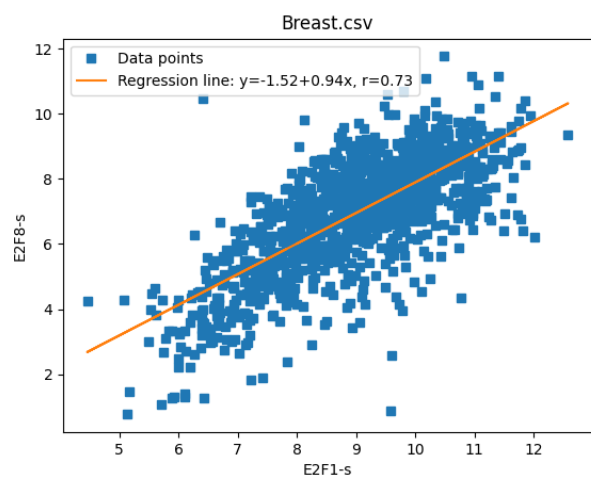
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



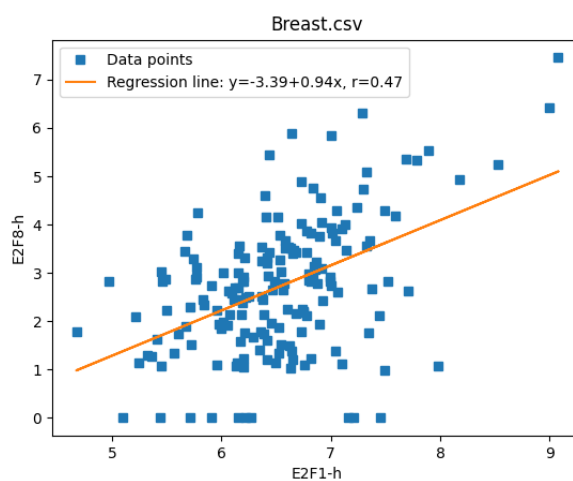
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



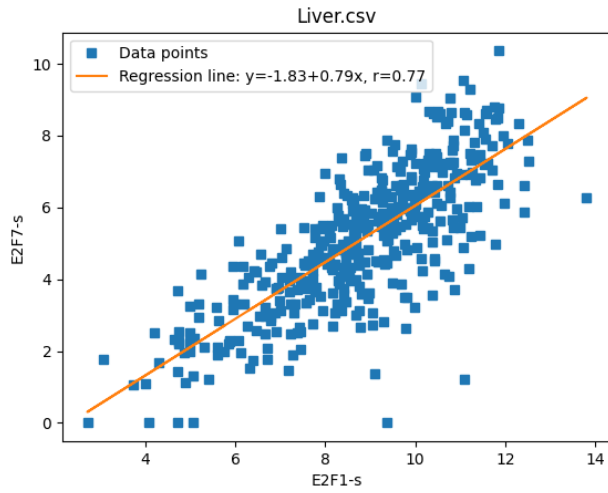
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



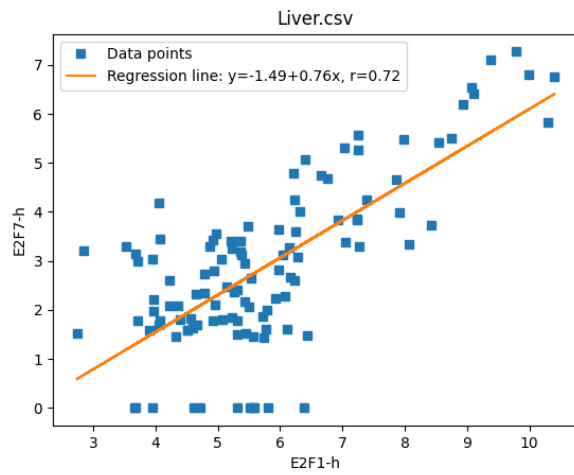
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



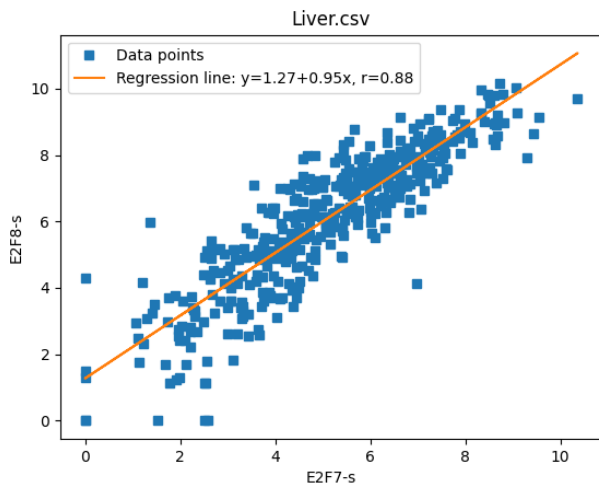
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה חולה:



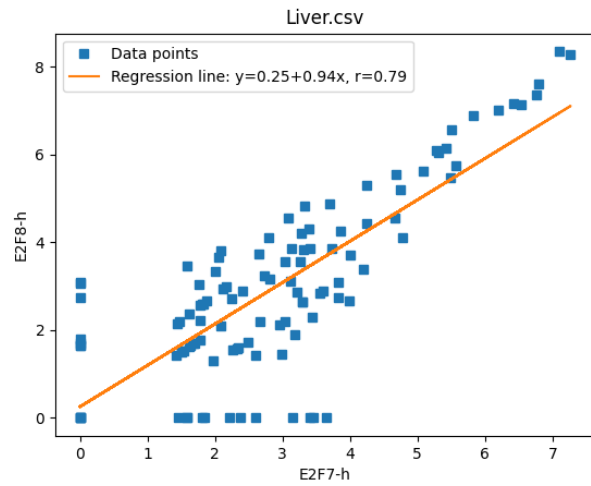
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



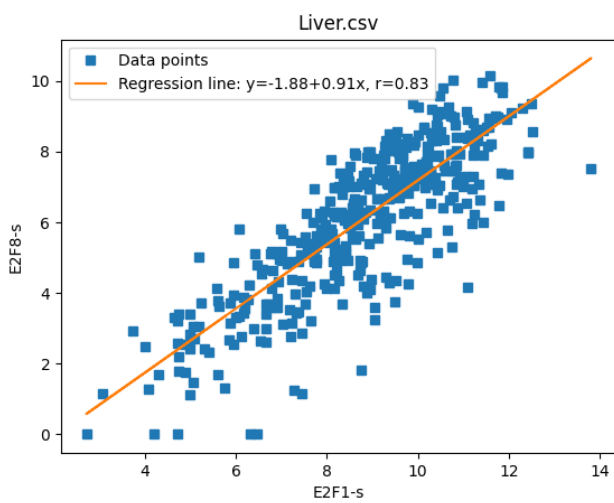
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



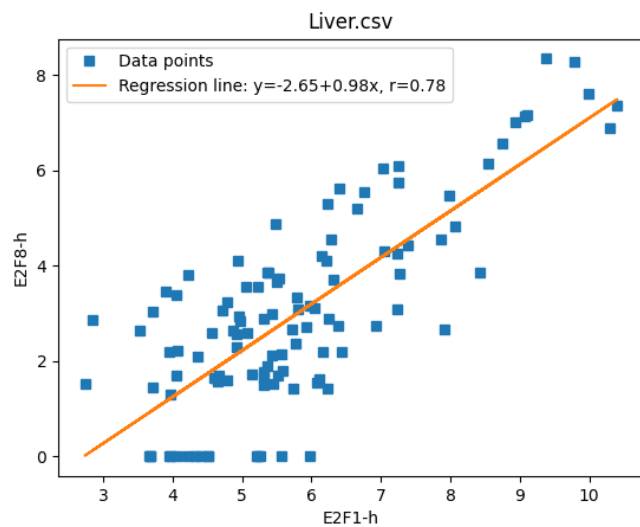
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



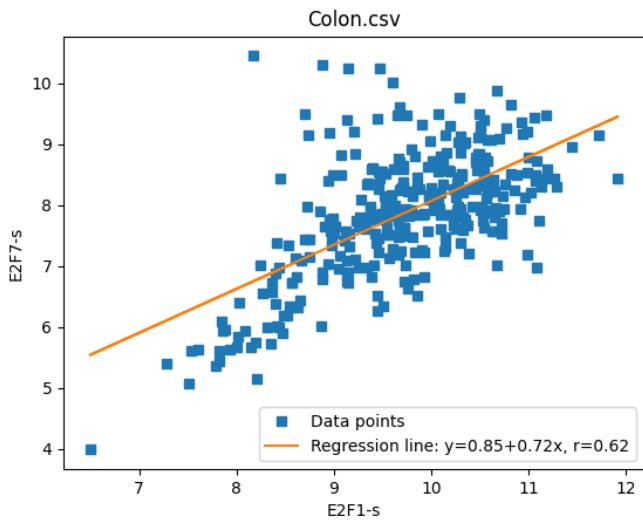
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



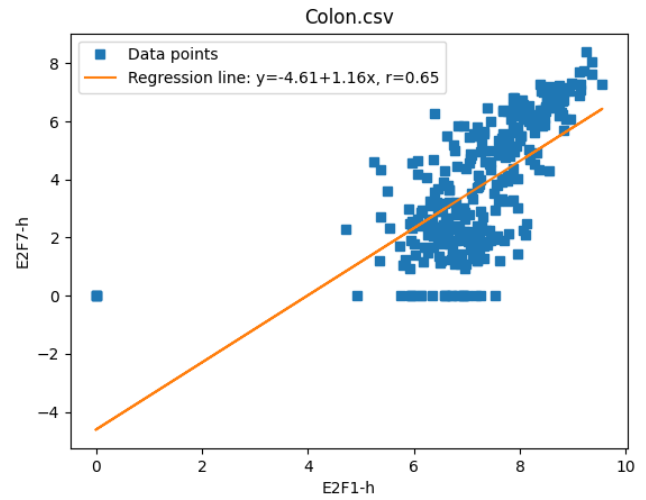
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



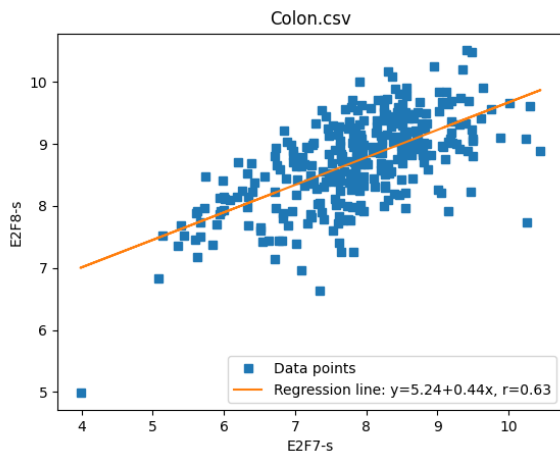
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



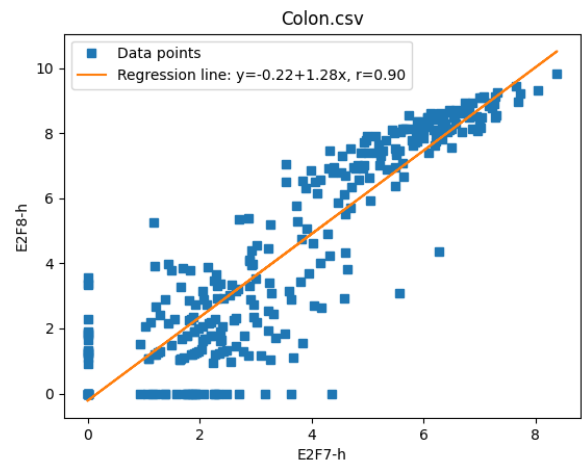
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



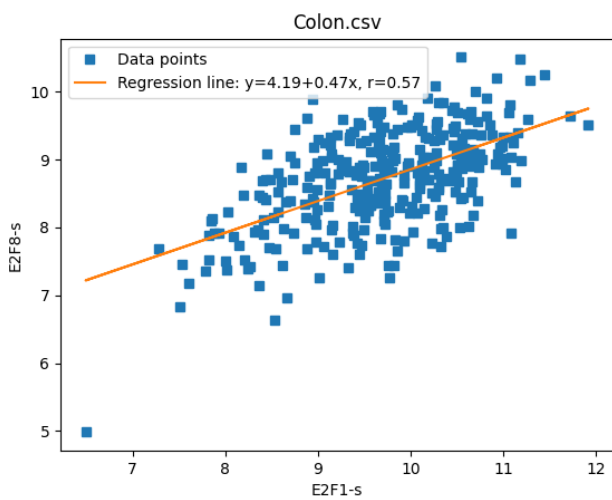
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



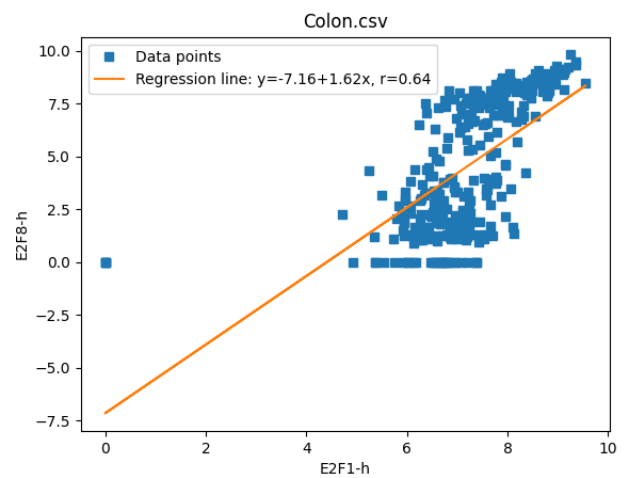
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



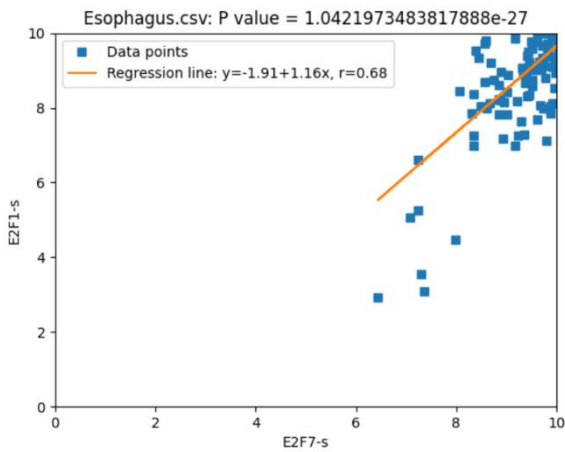
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



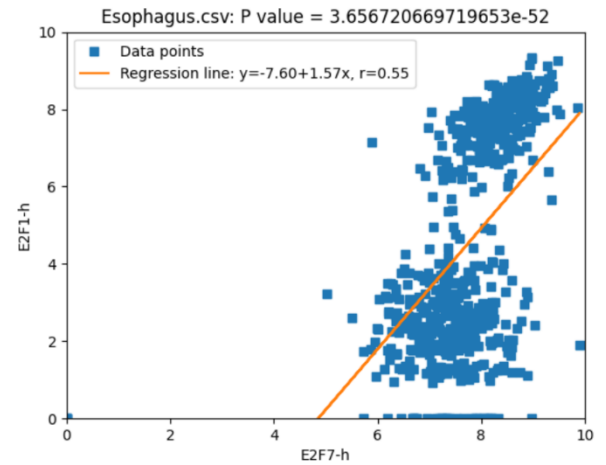
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



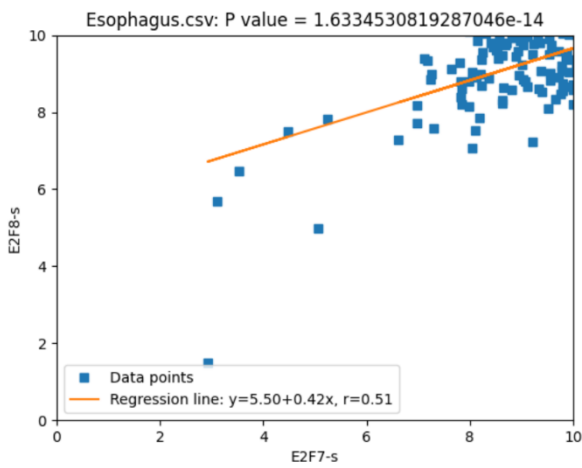
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה חולה:



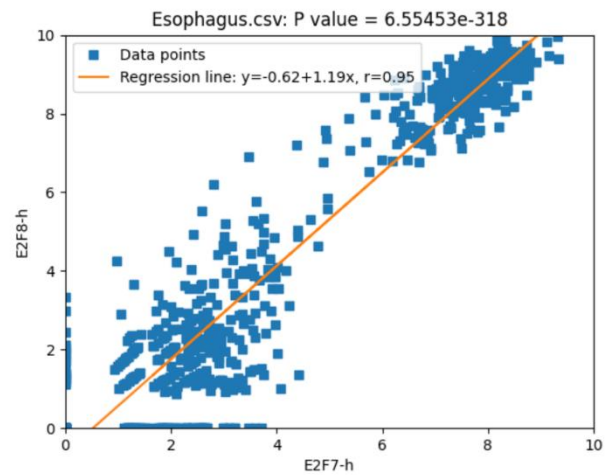
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



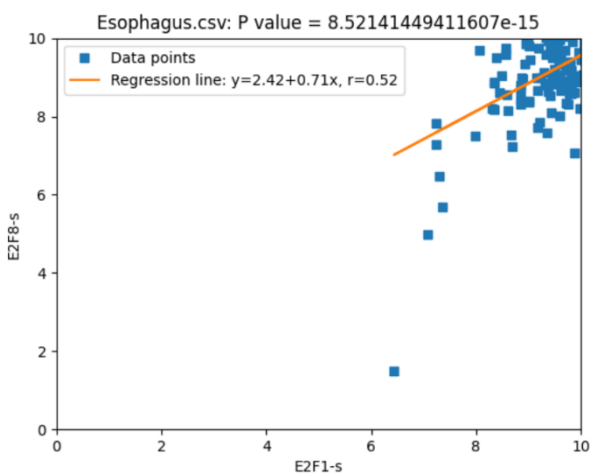
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



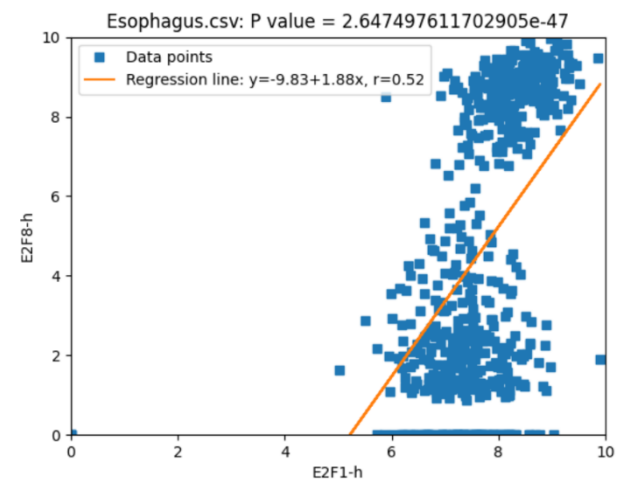
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



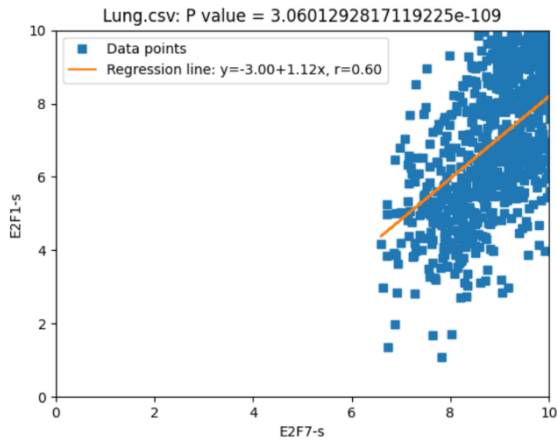
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



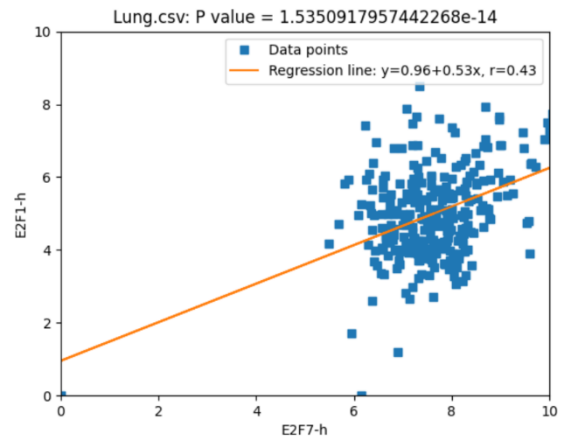
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



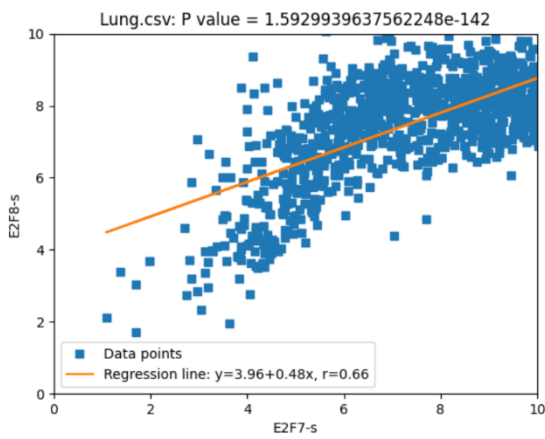
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



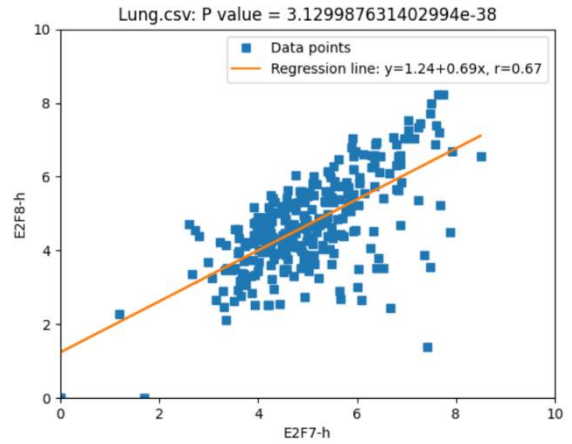
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



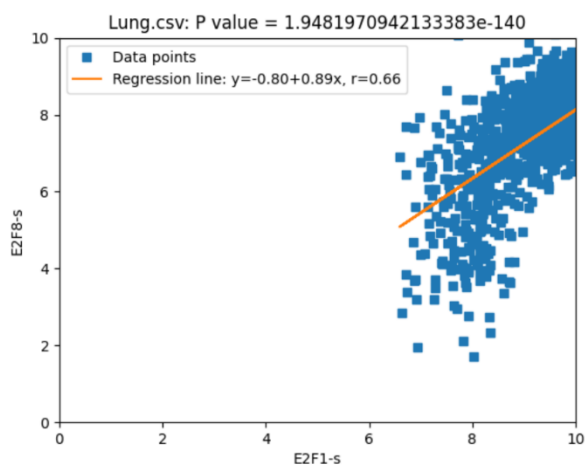
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



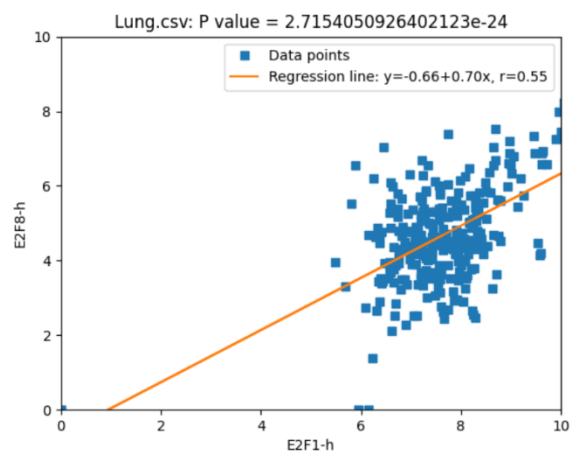
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



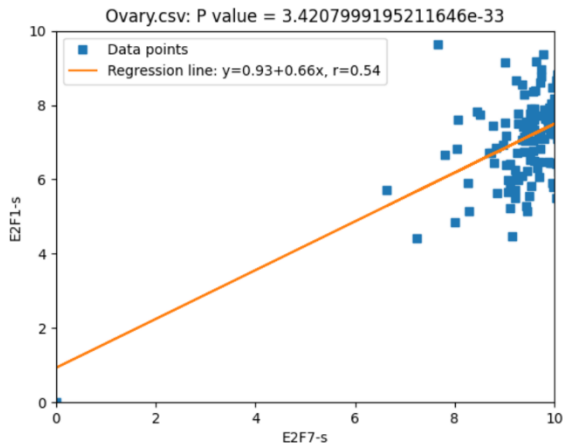
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



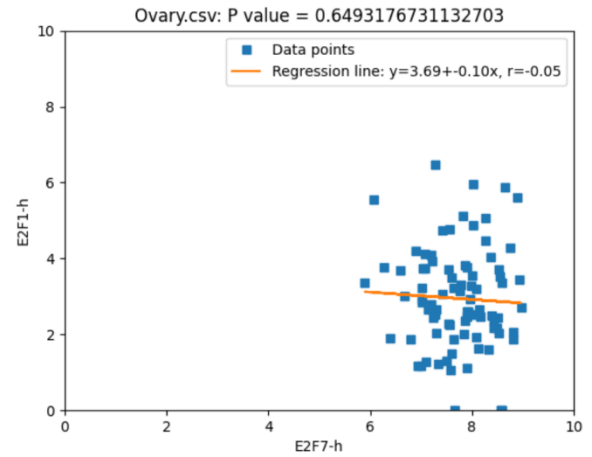
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



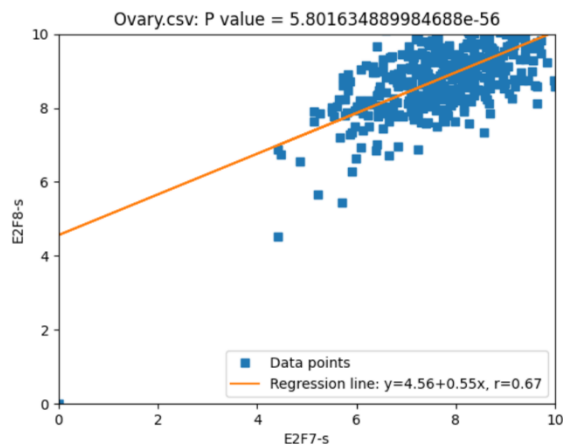
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



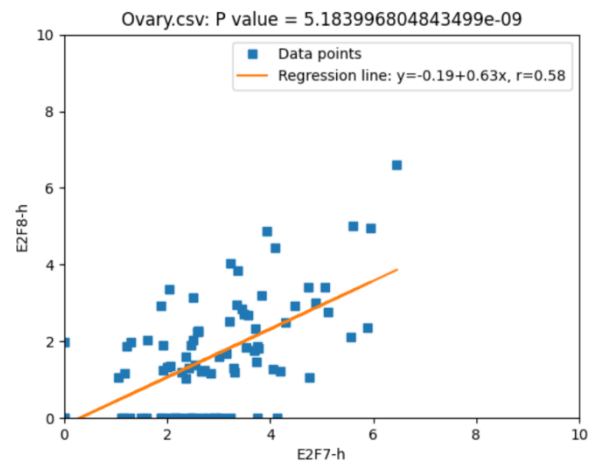
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



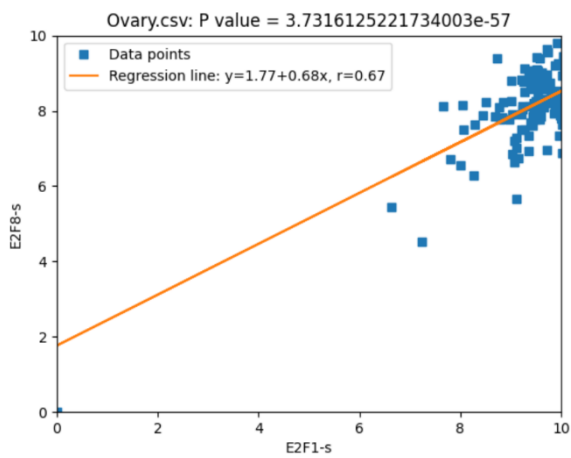
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



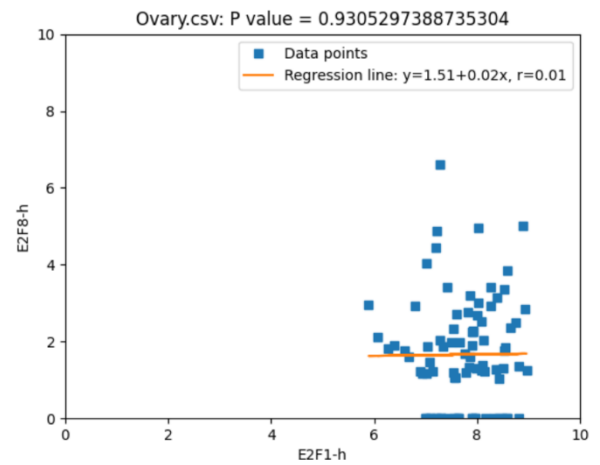
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



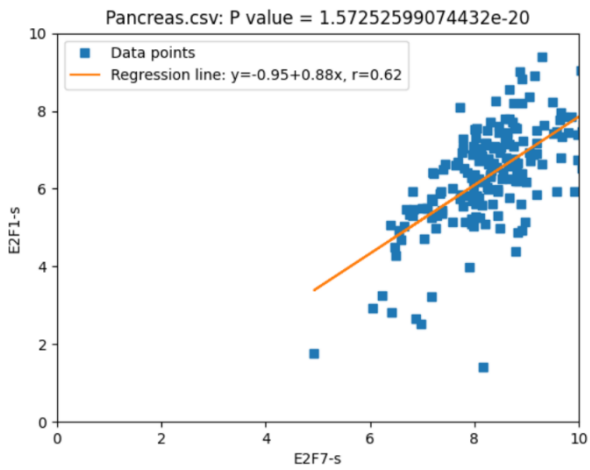
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



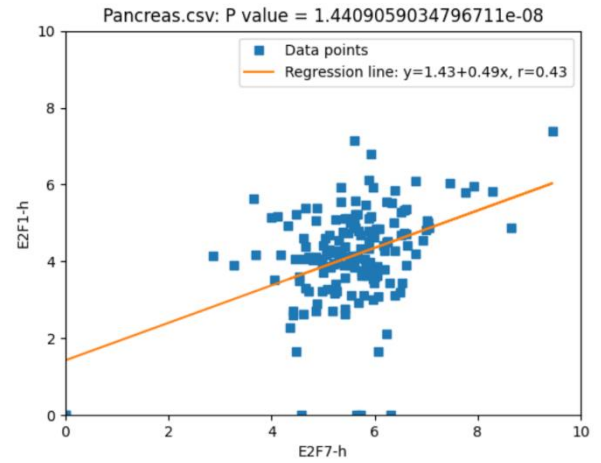
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



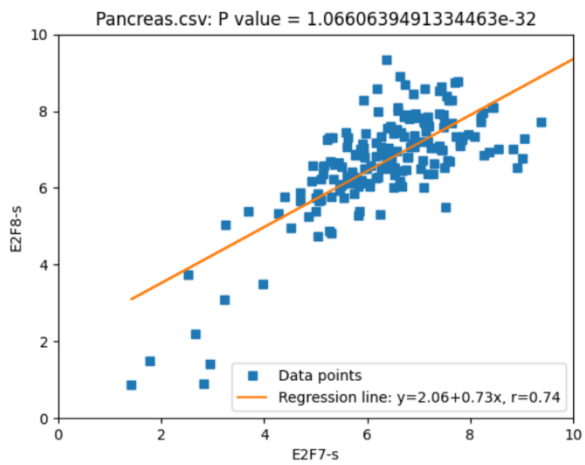
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



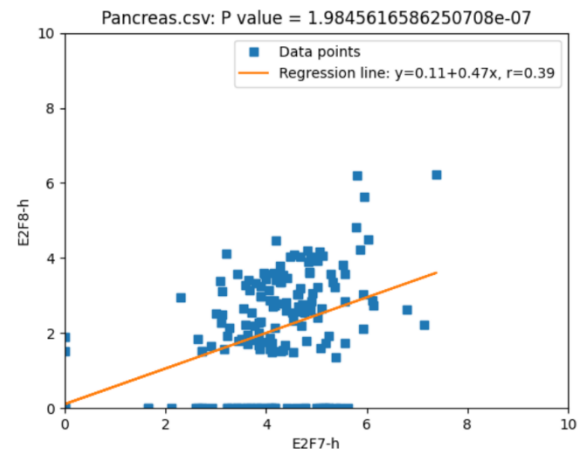
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



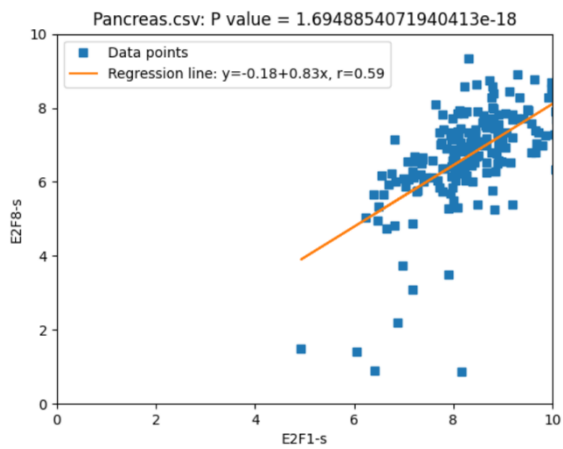
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



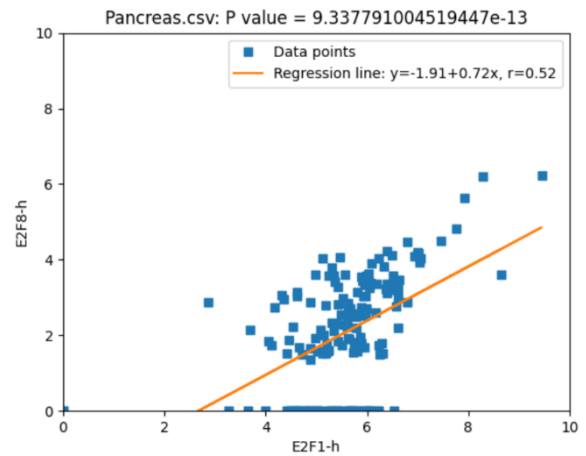
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



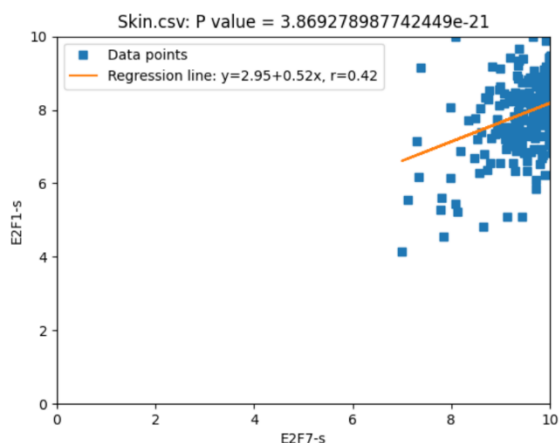
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



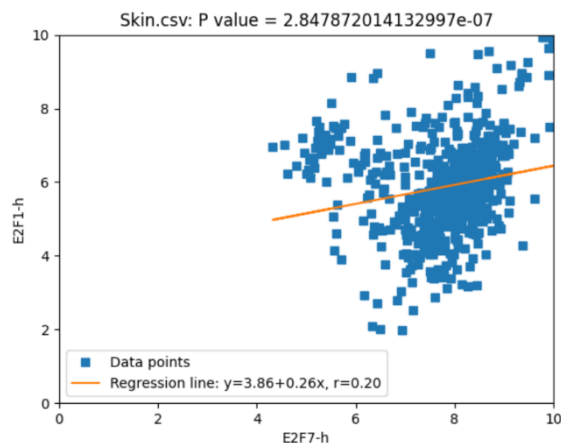
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



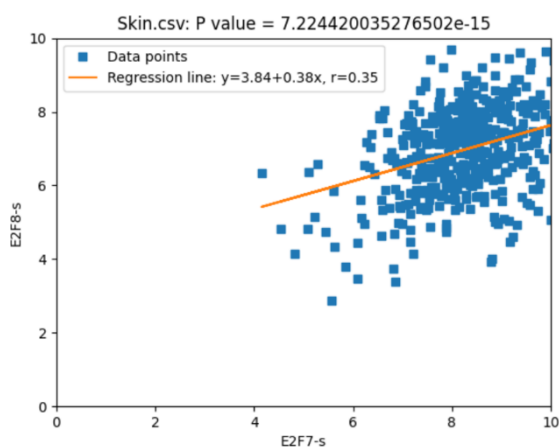
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה חולה:



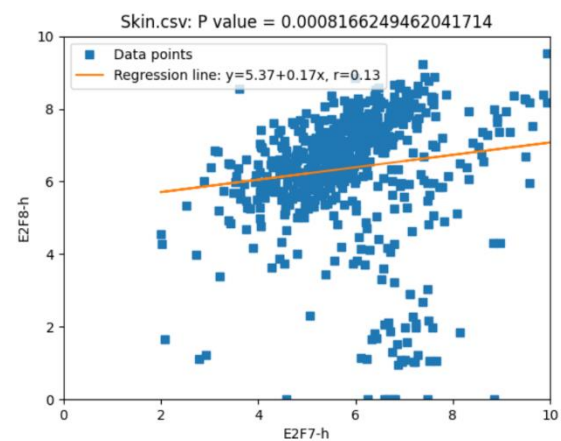
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F7 ברקמה בריאה:



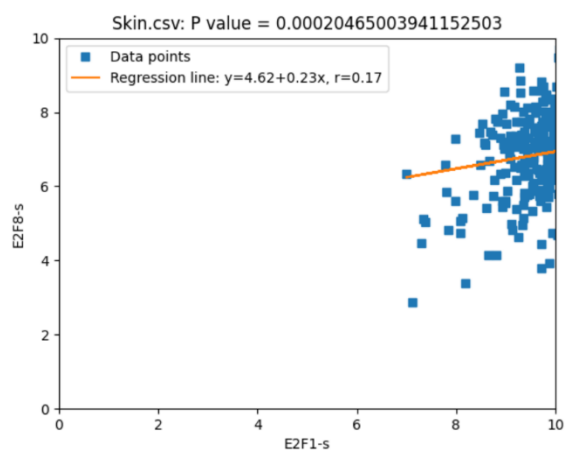
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



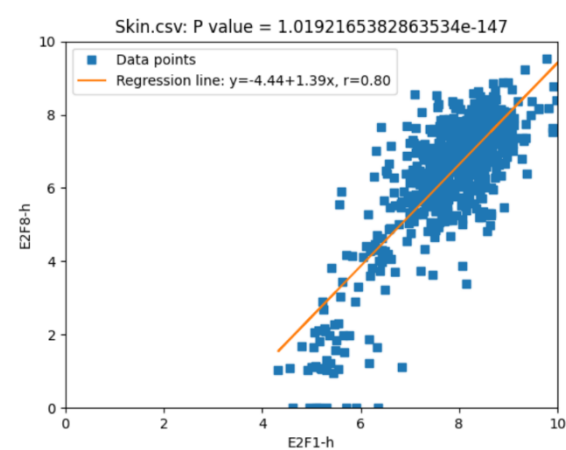
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



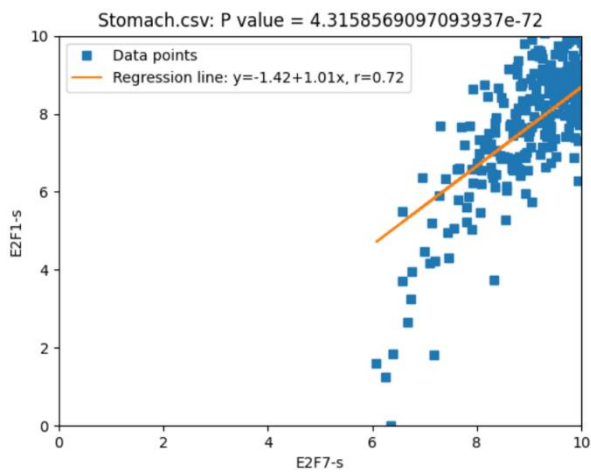
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה חולה:



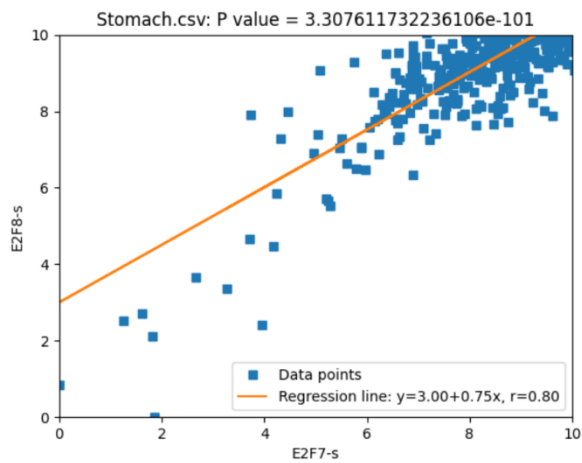
קורלציה עבור E2F1 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה חולה:

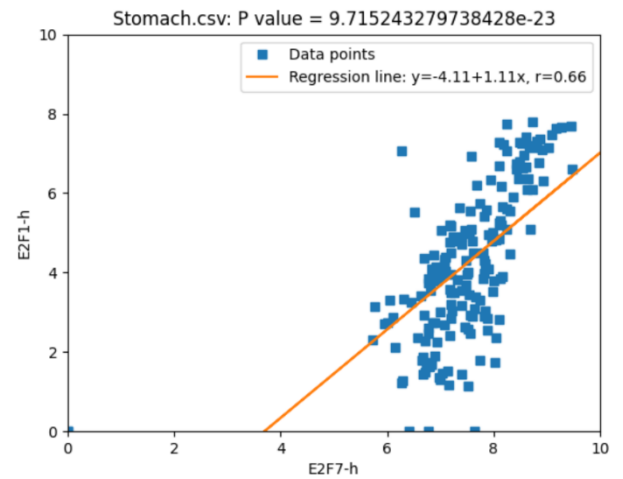


קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:

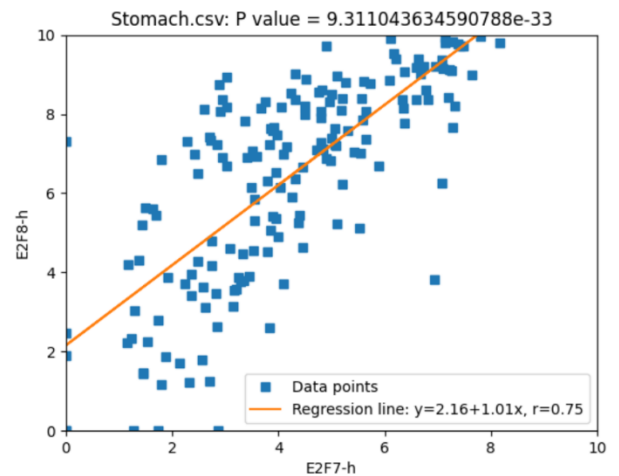


קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:

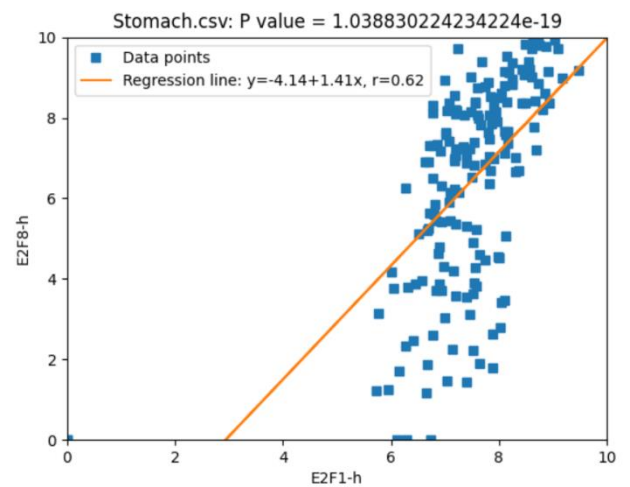
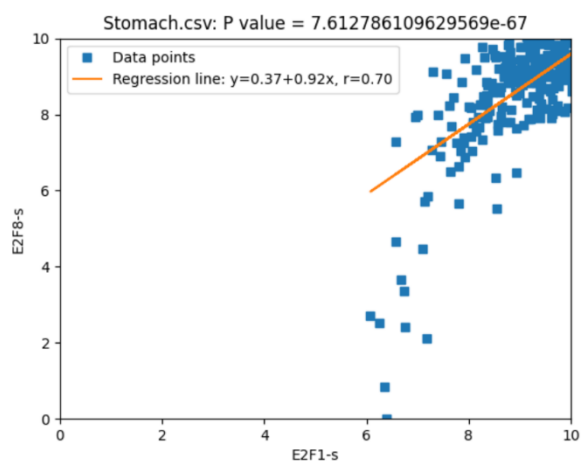
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



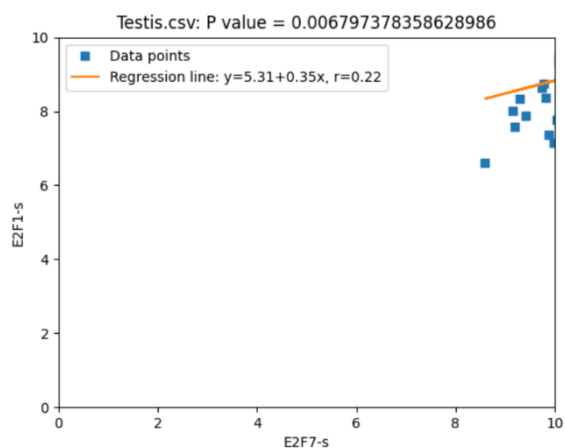
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



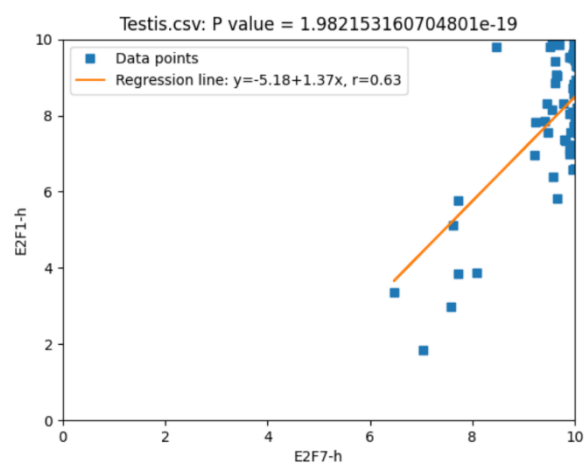
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



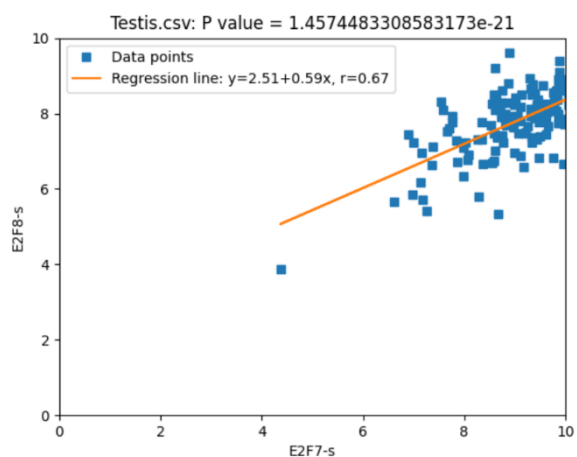
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה חולה:



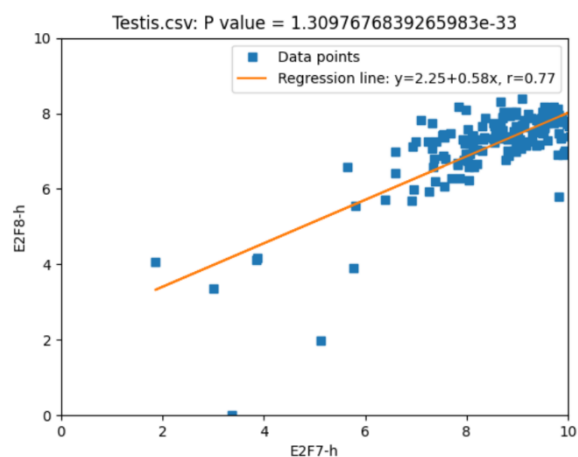
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



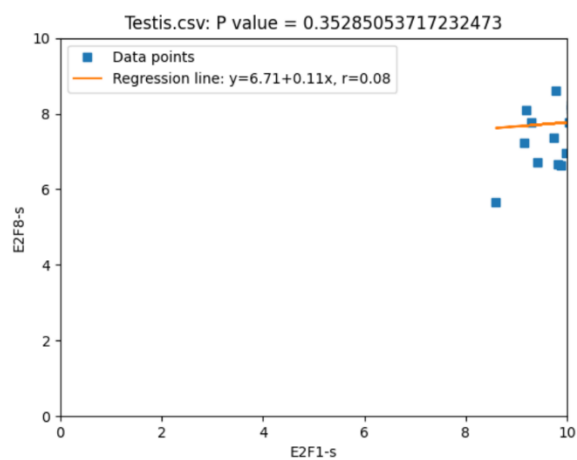
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה חולה:



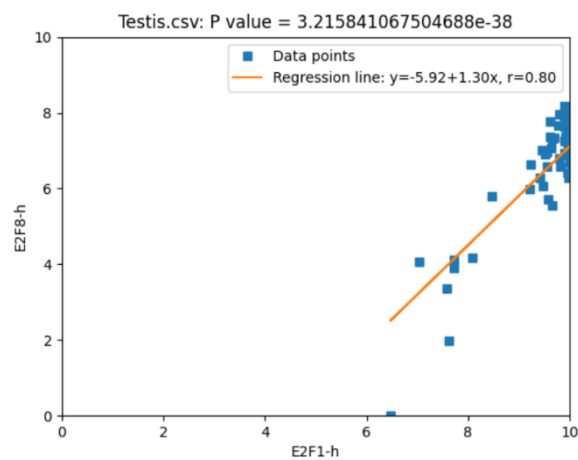
קורלציה עבור E2F7 ו-E2F8 ברקמה בריאה:



קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה חולה:



קורלציה עבור E2F7 ו-E2F1 ברקמה בריאה:



ביבליוגרפיה מאמרים בנושא

- Emanuele, M. J., Enrico, T. P., Mouery, R. D., Wasserman, D., Nachum, S., & Tzur, A. (2020). Complex Cartography: Regulation of E2F Transcription Factors by Cyclin F and Ubiquitin. *Trends in Cell Biology*, 30(8), 640–652. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.05.002>
- Ginsberg, D. (2002). E2F1 pathways to apoptosis. *FEBS Letters*, 529(1), 122–125. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03270-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03270-2)
- Kent, L. N., & Leone, G. (2019). The broken cycle: E2F dysfunction in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 19(6), 326–338. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0143-7>
- (Emanuele et al., 2020; Ginsberg, 2002; Kent & Leone, 2019)

קוד עבור הפרויקט

https://github.com/LinoyMenda/Final_Project_Bioinformatics

אתרים לאיסוף נתונים

<https://xenabrowser.net/datapages/>
<https://www.gtexportal.org/home/>

מידע על הכלים שמשמשים לניתוח הנתונים

<https://www.investopedia.com/terms/t/t-test.asp>
<https://www.hotjar.com/heatmaps/>
<https://data.library.virginia.edu/the-wilcoxon-rank-sum-test/>

מידע נוסף:

https://davidson.weizmann.ac.il/online/askexpert/life_sci/%D7%90%D7%99%D7%9A-%D7%AA%D7%90%D7%99%D7%9D-%D7%99%D7%95%D7%93%D7%A2%D7%99%D7%9D-%D7%9E%D7%AA%D7%99-%D7%9C%D7%94%D7%A4%D7%A1%D7%99%D7%A7-%D7%9C%D7%92%D7%93%D7%95%D7%9C-%D7%A9%D7%9E%D7%A2%D7%95%D7%9F

<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/e2f>