

УДК 576.5:615.2

РОЛЬ МАЛЫХ ГТФаз СЕМЕЙСТВА Rho В РЕГУЛЯЦИИ НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

© 2024 г. Д. Е. Бобков^{1, 2, 3, *}, А. В. Лукачева¹, А. И. Горб⁴, Г. Г. Полянская¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, 197341, Россия

³ Научно-исследовательский институт гриппа им. А.А. Смородинцева МЗ РФ, Санкт-Петербург, 197376, Россия

⁴ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 194064, Россия

* E-mail: bobkov@incras.ru

Поступила в редакцию 26.06.2023 г.

После доработки 11.08.2023 г.

Принята к публикации 17.08.2023 г.

Малые ГТФазы — это небольшие (около 21 кДа) белки, регулирующие множество биологических процессов, таких как транспорт везикул, цикл клеточного деления, клеточная миграция, инвазия, адгезия, пролиферация и репарация ДНК; они участвуют в канцерогенезе и нейродегенеративных заболеваниях. Некоторые из этих белков, такие как белки семейства Rho, являются ключевыми: регулируют актиновый цитоскелет, влияют на клеточную адгезию и подвижность. В настоящем обзоре рассмотрены нормальные и патологические процессы в клетках человека, в регуляцию которых вовлечены малые ГТФазы семейства Rho. Особое внимание уделено ингибиторам малых ГТФаз и их применению в терапии различных заболеваний.

Ключевые слова: цитоскелет, малые ГТФазы, Rho, ROCK, мезенхимные стволовые клетки, репликативное старение, канцерогенез, инвазия

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода; ИПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; МСК — мезенхимные стволовые клетки; РС — репликативное старение; GAP — белки, активирующие ГТФазную активность; GEF — фактор обмена гуанозина; ROCK — Rho-ассоциированная протеинкиназа; PAK — p21-активируемые киназы.

DOI: 10.31857/S0041377124010012, EDN: IHUEFW

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАЛЫХ ГТФаз СЕМЕЙСТВА Rho

Малые ГТФазы — небольшие (около 21 кДа) белки, продукты генов семейства Ras, которые участвуют в множестве клеточных процессов, включая регуляцию клеточного цикла, дифференцировку, апоптоз, клеточную подвижность и репарацию ДНК. Суперсемейство белков Ras включает в себя семейства Ras, Rho, Arf, Rab, Rap, Ran и другие; известно более 170 различных малых ГТФаз этого суперсемейства, каждый из которых играет уникальную роль в регуляции клеточных функций. Эти белки занимают различные функциональные места в клетке и регулируют множество биологических процессов, таких как транспорт везикул, цикл клеточного деления, клеточную миграцию, инвазию, адгезию и пролиферацию, репликацию ДНК, а также участвуют в нормальном развитии организма и проти-

водействии различным заболеваниям (Jaffe, Hall, 2005). У млекопитающих семейство Rho включает 20 членов, распределенных на основании выравнивания аминокислотных последовательностей по семи подсемействам: Rac, Cdc42, Rho, Rnd, RhoBTB, RhoDF и RhoUV (Narumiya, Thumkeo, 2018).

Типичные ГТФазы Rho, такие как RhoA, Rac1 и Cdc42, регулируются противоположным действием факторов обмена гуанозина (GEF) и белков, активирующих ГТФазную активность (GAP). GAP и GEF являются мультидоменными белками, способными связываться с другими белками и участками липидной мембраны, активируясь таким образом через аллостерические сайты в присутствии вторичных мессенджеров, таких как цАМФ, кальций или диацилглицерол (Bos et al., 2007). GEF активируют ГТФазы Rho, стимулируя обмен ГДФ на ГТФ, тогда как GAP катализируют гидролиз ГТФ, инактивируя эти белки.

Некоторые известные GEF для Rho — это белки p115-RhoGEF и GEF-H1; некоторые известные GAP — ARHGAP, ARAP3, p190RhoGAP (Van Buul et al., 2014). Многие GEF и GAP вносят вклад в опосредованную Rho регуляцию подвижности. Однако динамическая регуляция ГТФаз Rho требует не простого линейного взаимодействия (сначала между GEF и Rho ГТФазой, затем между ГТФазой и ее эффекторной мишенью и, наконец, между Rho и GAP), но скоординированной и локализованной работы множества компонентов (Van Buul et al., 2014).

У атипичных членов семейства Rho преобладает ГТФ-связанная форма. Так, подсемейства Rnd и RhoH не способны гидролизовать ГТФ, а значит, являются конститутивно ГТФ-связанными белками. RhoU имеет высокую внутреннюю скорость нуклеотидного обмена, поэтому предполагается, что он также преимущественно связан с ГТФ (Lawson, Ridley, 2018).

Сигналинг с помощью этих ГТФаз контролируется другими механизмами, обычно посттрансляционными модификациями, такими как фосфорилирование, убиквитинирование и сумоилирование. Посттрансляционные модификации также оказывают влияние на типичные ГТФазы, изменяя их локализацию в клетке, регулируя цикл ГТФ/ГДФ или взаимодействие ГТФаз с их эффекторами (Navarro-Lérida et al., 2021).

Белки семейства Rho важны по ряду причин: примерно 1% генома человека кодирует белки, которые либо регулируют Rho-белки, либо регулируются прямым взаимодействием с ними (Mosaddeghzadeh, Ahmadian, 2021); они контролируют почти все фундаментальные клеточные процессы у эукариот, включая морфогенез, поляризацию, подвижность, реорганизацию цитоскелета, цитокинез и экспрессию генов; их аномальная активация играет решающую роль в развитии рака, инфекционных и когнитивных расстройств, а также сердечно-сосудистых заболеваний (Ellenbroek, Collard, 2007).

Белки Rho состоят из консервативного G-домена, ответственного за связывание ГТФ (активация) и гидролиз связанного ГТФ до ГДФ (инактивация), а также C-концевой гипервариабельной области, оканчивающейся консенсусной последовательностью СААХ (где С — цистеин, А — любая алифатическая аминокислота, а Х — любая аминокислота).

Субклеточная локализация белков Rho регулируется за счет серии посттрансляционных модификаций остатка цистеина в мотиве СААХ,

включая изопренилирование, эндопротеолиз и карбоксиметилирование. G-домен состоит из пяти консервативных участков (G1–G5), два из которых, G2 и G3, претерпевают в цикле между неактивным и активным состояниями конформационные изменения и являются консенсусными сайтами связывания GEF, GAP, GDI и эффекторов (Mosaddeghzadeh, Ahmadian, 2021).

К настоящему времени известно более 70 потенциальных эффекторов, которые специфически взаимодействуют с ГТФ-связанной формой Rho-белков, обеспечивая таким образом передачу сигнала, к примеру, на пути Rho/ROCK, Rac/JNK или Cdc42/PAK (Vidal et al., 2002; Szczepanowska, 2009; Zhang et al., 2009; Amano et al., 2010).

Одни из наиболее изученных эффекторов RhoA — это Rho-ассоциированные серин-треониновые протеинкиназы I и II (ROCK I/II), модулирующие образование стресс-фибрилл и активность миозина и, следовательно, участвующие в регуляции клеточной адгезии, миграции и инвазии. Эти эффекторы также играют важную роль в регуляции сокращения гладких мышц и поддержании кровообращения. Кроме того, существуют данные о влиянии ROCK на регуляцию метаболизма глюкозы и липидов.

Для Rac1 и Cdc42 общими являются p21-активированные протеинкиназы (PAK1/2/3), также относящиеся к серин-треониновым протеинкиназам и влияющие на активацию киназ некоторых факторов транскрипции и стабилизацию актиновых филаментов (Mosaddeghzadeh, Ahmadian, 2021). Подсемейства белков семейства Rho, их GEF и GAP, а также пути активации и основные эффекторы представлены в табл. 1.

Необходимым условием функционирования многих ГТФаз Rho является ассоциация с мембраной, поэтому большинство Rho модифицированы на C-концах изопрениловыми липидами, что позволяет им локализоваться на мембране. Например, локализуясь на мембране, изопренилированный Rac1 может физически взаимодействовать с компонентами комплекса НАДФН-оксидазы, приводя к ее активации и образованию в клетке активных форм кислорода (АФК) (Ueyama et al., 2002).

Ингибиторы диссоциации гуанозина (GDI) регулируют RhoA, Rac1 и Cdc42, связываясь с изопренильными группами и тем самым предотвращая локализацию этих белков на мембране и создавая цитозольный пул инактивированных ГТФаз (Hodge, Ridley, 2016). Находясь на мембране, малые ГТФазы могут быть выявлены в липидных рафтах,

Таблица 1. Подсемейства белков семейства Rho, их GEF и GAP, пути активации и основные эффекторы

Подсемейство (ПС)	Члены ПС	GEF	GAP	Активаторы	Эффекторы
Rho	RhoA, RhoB, RhoC	Dbl, Lbc, Lfc, Lsc, Vav, Trio, Ost, Bcr, Abr, p115-RhoGEF, PDZ-RhoGEF, LARG, Net1, Ect2	p50, p190 RhoGAP, p122, Myr5, Graf, ARHGAP18 (MacGAP)	LPA, bombesin	Cit, Cnksr1, Diaph1, Diaph2, DgkQ, FlnA, KcnA2, Ktn1, Rtkn1, Rtkn2, Rhpn1, Rhpn2, Itpr1, PlcG1, PI-5-p5K, Pld1, Pkn1, Pkn2, Rock1, Rock2, PrkA, Ppplr12A
Rac	Rac1, Rac2, Rac3, RhoG, RhoH	Tiam, Vav, Trio, Bcr, Abr	p50, Bcr, Abr, N-chimerin, β -chimerin, p190GAP, 3BP-1, RalBP1	PDGF, insulin, bombesin	Sra1, IRSp53, PAK1, PAK2, PAK3
Cdc42	Cdc42, RhoQ (TC10), RhoJ (TCL)	Dbl, Vav, FGD1, Ost, Bcr, Abr	P50, Bcr, Abr, p190GAP, 3BP-1, Myr5, RalBP1, Graf	Bradikinin	WASp, N-WASP, IRSp53, Dia2, Dia3, ROCK1, ROCK2, PAK4
Rnd	Rnd1, Rnd2, Rnd3 (RhoE)	Syx	p190 RhoGAP	—	
RhoBTB	RhoBTB1, RhoBTB2, RhoBTB3	—			Cul3
RhoUV	RhoU (Wrch), RhoV (Chp)	—			
RhoF	RhoD, RhoF (Rif)	—			

Источники: Van Aelst, D'Souza-Schorey, 1997; Berthold et al., 2008; Goh, Manser, 2012.

что придает им дополнительную степень регуляции за счет пространственного сближения с рафт-ассоциированными GEF (Moissoglu, Schwartz, 2014).

В экспериментах, выполненных на клетках аденокарциномы легкого CL1, было показано, что интегральный мембранный белок кавеоллин стабилизирует структуру липидных рафтов и взаимодействует с интегрином $\beta 1$, вызывая инактивацию p190Rho-GAP и продлевая существование RhoA в активном состоянии (Yang et al., 2011). На МСК, полученных из костного мозга человека и обработанных метил- β -циклодекстрином, было показано, что чувствительность клеток к действию постоянного тока (120 В/см), измеряемая по миграционной способности, опосредована изменениями структуры липидных рафтов: кавеоллин олигомеризуется и ориентируется в магнитном поле, что приводит к запуску Rho и PI3-киназных сигнальных путей (Lin et al., 2017).

С одной стороны, малые ГТФазы управляют выпячиваниями и инвагинациями плазматической мембраны, контролируя состав белковых комплексов, содержащих актин и актин-связывающие белки и формирующих примембранный цитоскелет. С другой стороны, Arf- и Rab-зависимое слияние мембранных компартментов и экзоцитоз везикул,

содержащих малые ГТФазы, обеспечивает нацеливание ГТФаз Rho и их регуляторных компонентов на отдельные участки плазматической мембраны. Взаимодействие между мембранами и цитоскелетом может приводить к изменению площади поверхности плазматической мембраны и ее натяжения. Таким образом, процессы мембранного транспорта и динамического ремоделирования цитоскелета взаимосвязаны (de Curtis, Meldolesi, 2012).

Далее в обзоре будут рассмотрены участие малых ГТФаз семейства Rho в таких нормальных процессах, как организация цитоскелета, клеточная подвижность, репарация ДНК и репликативное старение, а также роль Rho ГТФаз в развитии различных патологических процессов и использование ингибиторов Rho ГТФаз в качестве фармакологических препаратов.

РЕГУЛЯЦИЯ ЦИТОСКЕЛЕТА И ПОДВИЖНОСТИ

ГТФазы семейства Rho регулируют актиновый цитоскелет и влияют на такие процессы, как изменение формы клетки, поляризация, клеточная адгезия и подвижность (Spiering, Hodgson, 2011; Hanna, El-Sibai, 2013). Подвижность необходима

клеткам для адаптации к изменениям в окружающей среде. Это сложный динамический процесс, охватывающий постоянное ремоделирование клеточной архитектуры, находящейся во взаимодействии с внеклеточным матриксом.

Чтобы структуры актинового цитоскелета могли координированно работать и обеспечивать клеточную подвижность, необходимы быстро активируемые сигнальные сети с пространственно-временной регуляцией, которые позволяют клеткам реагировать на внешние сигналы. Малые ГТФазы семейства Rho являются ключевыми компонентами таких сигнальных сетей (Sadok, Marshall, 2014; Hervé, Bourmeyster, 2015). Например, провоспалительный медиатор лизофосфатидная кислота (LPA) может усиливать клеточную подвижность следующим образом: LPA взаимодействует на поверхности клеток со специфическими G-белок-связанными рецепторами (LPAR), в результате чего активируется RhoA, который взаимодействует со своим эффекторным белком ROCK, который впоследствии активирует киназу легкой цепи миозина, что в свою очередь приводит к активации миозина путем фосфорилирования, а следовательно, повышению сократимости и образованию стресс-фибрилл.

Кроме того, RhoA может стимулировать полимеризацию актина через свои эффекторы mDia1 и mDia2 (формины), которые катализируют сборку F-актина во внутриклеточные структуры, обеспечивающие подвижность — филоподии и ламеллоподии. Cdc42 и Rac1 регулируют организацию актина, воздействуя на комплекс Arp2/3, ответственный за нуклеацию актина и ветвление, через свои эффекторные белки N-WASP и WAVE соответственно, что приводит к полимеризации актина и формированию филоподий или ламеллоподий (Ridley, 2015).

Помимо участия в регуляции актинового цитоскелета, малые ГТФазы Rho также являются регуляторами микротрубочек. RhoA через mDia может способствовать формированию стабильных и выровненных микротрубочек. Rac1 и Cdc42 могут влиять на стабильность микротрубочек, передавая сигналы ПАК на белок статмин, дестабилизирующий микротрубочки. Кроме того, Rac1 и Cdc42 способны способствовать захвату микротрубочек, что необходимо для их стабилизации и поляризации (Ellenbroek, Collard, 2007).

Семейство киназ ПАК, активируемых Rac/Cdc42, играет ключевую роль в сборке/разборке фокальных контактов (Rane, Minden, 2014). RhoA принимает участие в регуляции адгезивных контактов, передавая через mDia сигналы, необходи-

мые для формирования и поддержания адгезивных контактов, а через ROCK — для разрушения адгезивных контактов. Rac1 и Cdc42 через комплекс Par регулируют полярность передний—задний край и направленную миграцию в эпителиальных клетках. Rho также участвуют в процессах поляризации в других типах клеток (Ridley, 2015).

В подвижных фибробластоподобных клетках RhoA преимущественно активен в задней части клетки, где он индуцирует подтягивание отстающего конца клетки за счет сократительной способности миозина. Значительно меньшая часть активного RhoA присутствует на переднем крае клетки, причем активность RhoA в передней части клетки очень динамична и иногда индуцируется только на несколько секунд.

Интересно, что, с одной стороны, активность RhoA на переднем крае предшествует образованию выпячивания мембраны; с другой стороны, Rac1 почти исключительно активен на самом переднем крае мигрирующих клеток. Важно отметить, что активность RhoA в передней части достигает пика перед началом активности Rac1 в цикле выпячивание—подтягивание (Nguyen et al., 2018).

Активность обеих ГТФаз четко разделена либо в пространстве, либо во времени. Это связано с тем, что RhoA и Rac1 взаимно ингибируют друг друга. Было показано, что Rac1 снижает активность RhoA с помощью нескольких механизмов, некоторые из которых зависят от эффекторной киназы ПАК. RhoA, со своей стороны, способен снижать активность Rac1 за счет активации своих эффекторных белков ROCK1/2 (Comunale et al., 2007; Nguyen et al., 2018).

Было показано, что малые ГТФазы Rho играют важную роль в процессе митоза и цитокинеза. RhoA способствует округлению клеток, определению места деления и сборке/разборке сократительного кольца и остаточного тельца, а Cdc42 — ориентации веретена деления, а также целостности centrosомы и двунаправленному прикреплению хромосом к микротрубочкам. При этом Rac1 является негативным регулятором цитокинеза: его инактивация важна для правильного формирования и активности сократительного кольца (Chircop, 2014).

РОЛЬ МАЛЫХ ГТФаз Rho В ЯДРЕ

Помимо описанных функций, реализуемых малыми ГТФазами семейства Rho в цитозоле и на мембране клетки, существуют также и ядерные

функции этих белков. Так, канонические сигналы ядерной локализации были обнаружены в С-концевых полиосновных участках таких белков, как RhoC, RhoG, Rac1, Cdc42 и Rnd1 (Williams, 2003; Sandrock et al., 2010).

Кроме самих малых ГТФаз, в ядре также могут находиться некоторые GEF, примером чему является Net1, активирующий внутриядерную RhoA (Dubash et al., 2011). В обзорной статье Magalhaes et al. (2021) представлены данные, свидетельствующие о том, что малые ГТФазы, такие как Rac1, RhoA, Cdc42, не только регулируют состояние цитоскелета в цитоплазме, но и активно участвуют в процессах репарации ДНК. Показано, что сигнальный путь Net1/RhoA в ядре клетки вовлечен в ответ на повреждение ДНК (Dubash et al., 2011; Kim et al., 2018); повреждение ДНК индуцирует транспорт активного мономерного Rac1 в ядро (Hinde et al., 2014).

В клетке существует двунаправленная передача механических сигналов между ядром и цитоскелетом. Показано, что приложение напряжения к поверхности клетки передается ядру через цитоскелет и вызывает искажение ядра. Различное положение ядра у разных типов клеток также опосредовано взаимодействием ядра с цитоскелетом. При этом удаление комплекса, связывающего ядро с цитоскелетом, или самого ядра значительно изменяет механотрансдукцию (перевод физических сил в биохимические сигнальные пути) клетки, причем большая часть изменений связана со снижением активности RhoA (Kristó et al., 2016).

Малые ГТФазы Rho влияют на транскрипцию и экспрессию генов путем регуляции ядерного актина и актин-связывающих белков, таких как кофилин, профилин, формины и др. Кофилин и профилин участвуют в транспорте актина между ядром и цитоплазмой, формины — в репарации повреждений ДНК; эти белки также играют роль в транскрипции генов (Rajakylä et al., 2014; Kristó et al. 2016).

Было показано, что путь RhoA/ROCK вовлечен в опосредованную транскрипционным фактором SRF регуляцию экспрессии мышечных и гладкомышечных генов (Liu et al., 2003). Кроме того, RhoA, Rac1 и Cdc42 через управление транскрипционными факторами специфических генов, например циклина D1, который стимулирует переход из фазы G₁ клеточного цикла в фазу S, регулируют клеточный цикл и рост, а также апоптоз (Rajakylä et al., 2014).

Ядерная локализация Rac1 зависит от клеточного цикла: она повышается в конце фазы G₂

и снижается в начале G₁. Кроме того, установлено, что Rac1 локализуется на центросомах в фазе G₂, профазе и ранней прометафазе митоза, где он регулирует отделение центросом и начало митоза (Payapilly, Malliri, 2018).

Ранее было показано, что за ядерную локализацию Rac1 отвечает полиосновный участок PBR, содержащий канонический сигнал ядерной локализации, в то время как PBR в RhoA не способствует ядерной локализации этого белка (Lanning et al., 2004). Известно также, что фосфорилирование киназой ERK вызывает ядерную локализацию Rac1, но не RhoA (Tong et al., 2016).

RhoA не имеет сигнала ядерной локализации, но является регулятором транскрипционных факторов, таких как SRF, AP-1, NF- κ B, YAP/TAZ, β -катенин и HIF-1 α (Kim et al., 2018). Ядерная локализация RhoA в нескольких линиях МСК человека была продемонстрирована с помощью конфокальной микроскопии. Было обнаружено, что в процессе репликативного старения (РС) присутствие этого белка в ядре уменьшается (Bobkov et al., 2020, 2022).

На клетках рака кишечника с помощью коиммунопреципитации было показано, что RhoA формирует мультимолекулярные белковые комплексы с импортином α и субъединицей p50 транскрипционного фактора NF- κ B; авторы предполагают, что ядерную транслокацию RhoA обеспечивает механизм активного транспорта через ядерные поры (Xu et al., 2013). Обобщая такие исследования, можно сказать, что к настоящему времени механизмы ядерной локализации RhoA изучены не до конца, и этот вопрос подлежит дальнейшему исследованию.

МСК И РЕПЛИКАТИВНОЕ СТАРЕНИЕ

Механхимные стволовые клетки человека в настоящее время используются для фармакологических и биомедицинских исследований, связанных с широким спектром заболеваний, таких как сахарный диабет 1 типа, пневмония, ишемия конечностей, травмы головного или спинного мозга, периодонтит, рак и нейродегенеративные заболевания (Hezan et al., 2022; Jayasinghe et al., 2022; Navarro et al., 2022; Pischitutta et al., 2022; Chen et al., 2023; Mou et al., 2023; Sousa et al., 2023; Turano et al., 2023), поэтому изучение малых ГТФаз в МСК человека может помочь разработке новых методов лечения этих заболеваний.

Согласно требованиям Международного общества клеточной терапии, статус МСК, полученных

из любых источников, определяется рядом обязательных характеристик: адгезивностью к культуральному пластику, активной пролиферацией, экспрессией определенной панели поверхностных антигенов, нормальным кариотипом человека и способностью к дифференцировке в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях (Dominici et al., 2006).

Сравнительный анализ линий МСК, выделенных из разных источников, свидетельствует о разной степени выраженности в них статусных характеристик. Причинами различий могут быть следующие эпигенетические факторы: условия культивирования; различия состава секрета клеток линий, полученных от одного донора, но из разных органов или частей одного органа; микроокружение, в котором находились клетки до помещения их в условия *in vitro*. Причинами различий могут быть также генетические факторы, связанные с разными донорами (Полянская, 2018; Semenova et al., 2021; Shin et al., 2021; Poljanskaya et al., 2022).

МСК человека относятся к неиммortalизованным клеточным линиям. С увеличением числа клеточных удвоений в процессе культивирования МСК пролиферация клеток постепенно замедляется, и клеточная популяция входит в активную стадию РС. Процесс РС обусловлен укорочением теломера, происходящим при каждом цикле репликации ДНК и, соответственно, при каждом клеточном делении, как правило вследствие прекращения синтеза фермента теломеразы (Прайс, 1997; Хейфлик, 1997; Bodnar et al., 1998).

РС, происходящее в процессе длительного культивирования клеточных популяций МСК человека, представляет собой комплексный динамический процесс, индуцированный генетическими и эпигенетическими нарушениями, вызывающими многочисленные функциональные изменения в клетках, включая и статусные характеристики МСК (снижение пролиферативной активности, дифференцировочного потенциала, а также возможное усиление цитогенетической нестабильности). РС начинается на ранних пассажах и постепенно усиливается в процессе культивирования, входя в активную стадию (Turinetti et al., 2016; Poljanskaya et al., 2022).

Процесс РС постепенно способствует ухудшению и, в конечном счете, остановке клеточных процессов, характерных для МСК на ранних и средних пассажах. Его нельзя считать патологическим процессом, связанным с болезнями, а следу-

ет считать завершением генетической программы онтогенеза данных клеток (Matsumura et al., 1979; Хейфлик, 1997).

Изменения клеточных характеристик МСК в процессе РС обусловлены ключевыми микроРНК, которые являются мультипотентными факторами и участвуют в системе регуляции экспрессии генов, в частности путем взаимодействия с мРНК, корректируя функции разных транскрипционных факторов (Al-Azab et al., 2022; Poljanskaya et al., 2022; Yang et al., 2023).

Большую роль в изменении характеристик МСК играет состав секрета, который представляет собой кондиционированную среду, содержащую продукты секреции МСК: цитокины; факторы, ремодулирующие внеклеточный матрикс; ферменты; ростовые факторы, способствующие активации генетического аппарата клетки; паракринные факторы и др.

В результате изменения в процессе РС факторов, составляющих секретом, образуется секреторный фенотип, связанный со старением — SASP. (Özcan et al., 2016; Ratushnyy et al., 2020; Al-Azab et al., 2022; Liu et al., 2022). Недавно проведенный протеомный и биоинформатический анализ МСК, выделенных из костного мозга человека, позволил определить 95 белков, ассоциированных с РС. В процессе анализа функциональных взаимосвязей, выполненного с помощью инструмента STRING, среди этих белков были выявлены несколько ключевых: MYL6, MAP2K1, PAK2 и малая ГТФаза Cdc42 (Samsonraj et al., 2023).

Существуют и другие исследования, которые показывают, что малые ГТФазы могут играть роль в регуляции старения МСК. Так, на МСК, полученных из жировой ткани состарившихся крыс, было показано, что повышенная активность Cdc42 в них приводит к клеточному старению (Zhang et al., 2021).

В сравнительном исследовании, выполненном на различных линиях МСК человека, полученных от здоровых доноров, была показана отрицательная корреляция между степенью РС и ядерной локализацией RhoA (Bobkov et al., 2022). Ген, кодирующий RhoB, был выявлен среди генов, повышенная экспрессия которых является постоянным и селективным признаком устойчивой способности к самообновлению гемопоэтических стволовых клеток (Kent et al., 2009). Малые ГТФазы также могут принимать участие в регуляции дифференцировки МСК; например, было показано, что МСК дифференцируются в мио-

фибробласты при включении пути RhoA/ROCK и в эндотелиальные клетки — при его выключении (Li et al., 2016).

Роль Rac1 в регуляции стабильности генома и РС была исследована в экспериментах, выполненных на первичных эмбриональных фибробластах мыши. Индукция старения за счет потери или увеличения активности Rac1 была обусловлена, по крайней мере частично, увеличением клеточных АФК. Делеция гена *rac1* вызывала компенсаторную активацию близкородственного члена семейства — Rac3, который индуцирует путем связывания с НАДФН-оксидазой продукцию АФК независимо от Rac1. Генетическая делеция p53 в этих клетках способствует (по результатам окраски на SA-β-галактозидазу) снижению в популяции количества старых клеток.

Авторы приходят к выводу, что в совокупности эти результаты показывают, что активность Rac1 служит регулятором РС посредством модуляции образования АФК в клетке, стабильности генома и активности p53 (Debidia et al., 2006).

Кроме того, существуют исследования, которые показывают, что малые ГТФазы могут играть важную роль в регуляции старения организма человека. Интересно, что в раннем исследовании (Kerber et al., 2009), в котором изучали связь профилей экспрессии генов со старением и смертностью в семьях в течение трех поколений, самая сильная связь с негативными результатами была обнаружена для гена *Cdc42*.

Недавно опубликованы данные, показывающие, что уровни белка *Cdc42*, измеренные в периферической крови 196 доноров, коррелировали с хронологическим возрастом участника, установленным с помощью анализа профиля метилирования ДНК. Была также обнаружена сильная положительная корреляция с сердечно-сосудистыми заболеваниями (Florian et al., 2017; Leins et al., 2018). Роль белка *Cdc42* в старении организма и связанных со старением заболеваниях широко обсуждается в настоящее время (Pawelec, 2018; Umbayev, 2023).

МАЛЫЕ ГТФазы СЕМЕЙСТВА Rho В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Как будет видно из представленных далее примеров, малые ГТФазы семейства Rho вовлечены в развитие ряда патологических процессов, включая рак, нейродегенеративные и сердечно-сосудистые заболевания.

Чаще всего развитие патологического процесса обусловлено избыточной активностью какой-либо ГТФазы и ассоциированного с ней сигнального пути, поэтому в настоящее время ведется поиск фармакологических средств, нацеленных на ингибирование как самих малых ГТФаз, так и ассоциированных с ними киназ. Некоторые такие ингибиторы, разной степени специфичности, представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2. Ингибиторы малых ГТФаз семейства Rho

Ингибитор малых ГТФаз	Целевой белок	IC ₅₀ *	Источник литературы
C3 Exoenzyme	RhoA, RhoB, RhoC	—	Barth et al., 2015
TAT-C3			Sahai, Olson, 2006
Rhosin	RhoA	0.4 мкМ	Shang et al., 2012
Ibuprofen		—	Dill et al., 2010
Y16	RhoGEF		Shang et al., 2013
EHT 1864	Rac1, Rac1b, Rac2, Rac3		Onesto et al., 2008
EHop-016	Rac1, Rac3	1.1 мкМ	Dharmawardhane et al., 2013
NSC 23766	Rac1	50–100 мкМ	Mizukawa et al., 2011; Prieto-Dominguez et al., 2019
ZINC69391		41–54 мкМ	Cardama et al., 2014
1A-116		4–21 мкМ	Cabrera et al., 2017
BART		—	Taniuchi et al., 2012
YM1B			Jim Leu et al., 2013
Migrastatin			Shan et al., 2005
AZA1			Zins et al., 2013
R-ketorolac			Guo et al., 2015
MBQ-167	Rac1, Cdc42	0.08–0.1 мкМ	Humphries-Bickley et al., 2017

Ингибитор малых ГТФаз	Целевой белок	IC ₅₀ *	Источник литературы
CID-2950007 (ML141)	Cdc42	200 нМ	Surviladze et al., 2010; Hong et al., 2013
CID44216842		1 мкМ	Hong et al., 2013
MLS000532223		16–120 мкМ	Surviladze et al., 2010
MLS-573151		2 мкМ	Wang et al., 2017
ZCL278		11.4 мкМ	Aguilar et al., 2019
ZCL367		—	Aguilar et al., 2019
CASIN		2 мкМ	Florian et al., 2012
Secramine A		—	Pelish et al., 2006

*IC₅₀ — концентрация полумаксимального ингибирования.

Таблица 3. Некоторые ингибиторы ассоциированных с малыми ГТФазами семейства Rho- киназ, используемые в качестве фармакологических препаратов

Ингибитор	Целевой белок	IC ₅₀ *	Применение в медицине	Источник литературы
HA-1077 (Fasudil)	ROCK1 ROCK2	0.33 мкМ 0.158 мкМ	Острый инсульт, стенокардия, легочная гипертензия	Shi, Wei, 2013
FSD-C10		—	Аутоиммунные заболевания ЦНС	Xin et al., 2015
Y27632		220 нМ 300 нМ	Реперфузионное повреждение, гипертония, инсульт, астма, рак	Narumiya et al., 2000
AR-12286 (Verosudil)		2 нМ	ПВГ**, глаукома	Ren et al., 2023
TC-S 7001 (Azaindole-1)		0.6 нМ 1.1 нМ	Гипертония, рак	Kast et al., 2007
RKI-1447		14.5 нМ 6.2 нМ	ПВГ, рак	Patel et al., 2012
Y-39983		3.6 нМ	Глаукома	Ramachandran et al., 2011
K-115 (Ripasudil)		51 нМ 19 нМ	ПВГ, глаукома	Kaneko et al., 2016
AMA0076		3.7 нМ 2.3 нМ	Глаукома	Abbhi, Piplani, 2020
SR-3677	ROCK2	3 нМ	Сердечный фиброз	Santos et al., 2019
SAR407899		135 нМ	Гипертония, эректильная дисфункция	Löhn et al., 2009
H-1152		0.012 мкМ	Глаукома	Liao, et al., 2007
KD025 (Belumosudil, SLx-2119)		60 нМ	Атеросклероз, фиброз, солидные опухоли	Diep et al., 2018
Thiazovivin	ROCK1	0.5 мкМ	Получение iPSCs	Park et al., 2017
GSK429286A		14 нМ	Гипертония, воспаления	Goodman et al., 2007
DJ4	ROCK1 ROCK2 MRCK	—	Рак	Kale et al., 2014
AT13148	ROCK1 ROCK2 AKT p70S6K PKA	6 нМ 4 нМ 50 нМ 8 нМ 3 нМ		McLeod et al., 2020
BDP8900	MRCK	43 нМ		Unbekandt et al., 2014
BDP9066		64 нМ		East, Asquith, 2021
KPT-9274	PAK4	—		Cordover et al., 2019; Crosas-Molist et al., 2022

*IC₅₀ — концентрация полумаксимального ингибирования соответствующей киназы; ** ПВГ —повышенное внутриглазное давление.

Молекулярный механизм ингибирования малых ГТФаз такими специфическими ингибиторами, как малые молекулы и пептиды, заключается в том, что ингибиторы связываются с GEF-связывающим участком G-домена и либо стерически блокируют взаимодействие GEF с ГТФазой, либо запирают ГТФазу в конформационном состоянии, неспособном к связыванию с GEF (Gray et al., 2020).

Механизмы ингибирования активности ГТФаз Rho неспецифическими ингибиторами типа нестероидных противовоспалительных препаратов (ибупрофена) до сих пор не ясны (Dill et al., 2010).

Существует связь малых ГТФаз семейства Rho с различными формами нейродегенерации — болезнью Альцгеймера, боковым амиотрофическим склерозом и болезнью Паркинсона. Показано, что активация пути RhoA/ROCK усиливает продукцию β -амилоида в нейронах, а кроме того, может способствовать реакциям нейровоспаления путем активации клеток микроглии и астроцитов, которые высвобождают воспалительные цитокины (Cai et al., 2021).

В обзоре Schmidt et al., (2022) описывается множество исследований, посвященных роли RhoA в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. RhoA оказывает влияние на актиновый цитоскелет, транспорт нейротрансмиттеров и синаптическую пластичность, поэтому возможны механизмы, по которым RhoA может участвовать в регуляции патологий, сопряженных с переключением когнитивных механизмов, эксайтотоксичностью и оксидативным стрессом. В этой связи обсуждают перспективы терапевтических подходов для лечения нейродегенеративных заболеваний, в которых будут использовать ингибиторы RhoA (Guiler et al., 2021; Linseman, Lu, 2023).

Аномальную активацию пути RhoA/ROCK наблюдали при основных сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз, рестеноз, гипертензия, легочная гипертензия и гипертрофия сердца (Loirand et al., 2006). Существуют и клинические исследования, в которых применяют комбинации из ингибиторов малых ГТФаз.

Комбинации нескольких препаратов позволяют достичь синергетического эффекта и повысить эффективность лечения. Например, в клиническом исследовании NCT00914277 изучается комбинация ROCK2 ингибитора SAR407899 (Löhn et al., 2009) и силденафила для лечения эректильной дисфункции. Это клиническое исследование сейчас находится в фазе 2.

Трудно переоценить ту роль, которую малые ГТФазы семейства Rho играют в канцерогенезе (Humphries et al., 2020). Одной из наиболее опасных особенностей опухолей является способность их клеток к инвазии, то есть проникновению в окружающую ткань, а также образованию метастазов в других органах (Al-Koussa et al., 2020). Поскольку малые ГТФазы семейства Rho играют ключевую роль в регуляции подвижности, их гиперактивация в раковых клетках позволяет последним усиленно мигрировать, инвазировать в окружающие ткани и образовывать метастазы (Qadir et al., 2015; Haga, Ridley, 2016; Porter et al., 2016; Maldonado, 2018, 2020; Prieto-Dominguez et al., 2019; Ma et al., 2023; Santos et al., 2023).

Например, гиперактивация LPA/Rho/ROCK сигнального пути ассоциирована с метастазированием и инвазией рака яичников (Yung et al., 2014). В этой связи использование ингибиторов малых ГТФаз семейства Rho и ассоциированных с ними киназ является одним из направлений развития новых методов терапии рака (Liao et al., 2007).

В обзоре Crosas-Molist et al. (2022) подчеркивается роль Rho на каждом этапе прогрессирования рака, поэтому изучение функциональной роли малых ГТФаз на этих этапах может помочь в идентификации новых молекулярных маркеров рака, которые могут использоваться для диагностики и прогнозирования заболевания.

Роль Rac в регуляции инвазии клеток глиобластомы связана с тем, что этот белок активно участвует в механизмах регуляции клеточной адгезии и подвижности, обеспечивая изменение цитоскелета и поддержание связи клетки с внеклеточным матриксом. Например, было показано, что Rac2, но не Rac1, имеет решающее значение для инициации острого миелоидного лейкоза в модели ретровирусной экспрессии в клетках MLL-AF9. Однако потери Rac1 или Rac2 достаточно, чтобы ухудшить выживаемость и рост трансформированных клеток. Rac2 положительно регулирует экспрессию белков семейства Bcl-2 что приводит к подавлению апоптоза (Mizukawa et al., 2011).

Мембранная локализация белков Rho-семейства является ключом к их активации и регулируется пренилированием. Стадины ингибируют пренилирование ГТФаз Rho и таким образом предлагают интересные терапевтические возможности.

В настоящее время более 70 клинических испытаний проводят для того, чтобы показать, что стадины обладают противоопухолевым действием при солидных и гематологических злокачественных

опухолях. Статины увеличивают выживаемость больных раком головы и шеи (Barbalata et al., 2020).

В других исследованиях было показано, что ингибирование пренилирования Rho статинами повышает иммуногенность клеток меланомы и стимулирует противоопухолевый иммунитет (Sarrabayrouse et al., 2017), а также ингибирует инфицирование клеток респираторно-синцитиальным вирусом (Malhi et al., 2021). Однако на клетках эндотелия сосудов линии HUVEC недавно были выявлены нарушения барьерной функции как следствие длительного ингибирования пренилирования Rho с помощью статинов (Aslam et al., 2019).

В настоящее время проводится значительное количество клинических испытаний ингибиторов малых ГТФаз семейства Rho в лечении различных типов рака. Исследования показывают, что ингибирование Cdc42-связывающей киназы (MRCK) нарушает рост и диссеминацию рака кожи (Unbekandt et al., 2014). Селективные ингибиторы MRCK показали стойкие антипролиферативные эффекты и в других экспериментах, однако нужны дальнейшие доклинические исследования для изучения биодоступности и токсичности (Cordover et al., 2019).

Существуют клинические исследования, в которых ингибитор киназ ROCK1 и ROCK2 фасудил применяется для лечения атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний (Shi, Wei, 2013). Фасудил и рипасудил, тоже ингибитор ROCK, используются в клинической практике для лечения церебрального вазоспазма и глаукомы в Азии.

В первое исследование фазы I на людях с использованием AT13148, сильнодействующего двойного ингибитора ROCK–АКТ, были включены пациенты с солидными опухолями, в основном с колоректальным раком. В этой работе не сообщалось о клинических ответах из-за узкого терапевтического индекса и фармакокинетического профиля ингибитора (McLeod et al., 2020).

Одним из способов изучения роли RhoA в инвазии опухолей является использование ингибиторов RhoA для блокировки его активности. Например, одним из таких ингибиторов является токсин С3 бактерии *Clostridium botulinum*, который специфически инактивирует RhoA путем ковалентного присоединения АДФ-рибозы (Barth et al., 2015).

Было показано, что факторы, индуцируемые гипоксией (HIF), активируют транскрипцию генов и вызывают экспрессию RhoA и ROCK1, что

приводит к реорганизации цитоскелета, которая лежит в основе фенотипа инвазивных раковых клеток. Согласованно повышенные уровни мРНК RhoA и ROCK1 при раке молочной железы человека предсказывают смертность пациентов.

Эти результаты демонстрируют, что такой стимул микроокружения, как гипоксия, может активировать Rho-ассоциированный путь передачи сигнала и таким образом стимулировать прогрессирование рака (Gilkes et al., 2014). Для глиобластомы было показано, что белок Netrin-1 способствует ангиогенезу и инвазии опухоли, включая пути RhoA, CREB и катепсина В (Shimizu et al., 2013).

Стоит также упомянуть исследование, опубликованное в журнале *Oncotarget* в 2016 г., где было показано, что Cdc42 имеет повышенную активность в глиобластомах низкой и высокой степени злокачественности. Авторы предположили, что эти малые ГТФазы могут играть критичную роль в миграции и инвазии клеток глиобластомы, и поэтому они могут быть потенциальными мишенями для новых лекарственных препаратов (Okura et al., 2016).

Синтетические аналоги миграстатина являются мощными ингибиторами метастазирования в мышиной модели опухоли молочной железы. Введение этих соединений почти полностью ингибирует метастазирование в легкие высокометастатических клеток карциномы молочной железы.

Обработка опухолевых клеток аналогами миграстатина блокирует активацию Ras, образование ламеллиподий и миграцию клеток. Эти соединения также ингибируют миграцию клеток метастатического рака молочной железы, клеток рака предстательной железы и рака толстой кишки, но не нормальных эпителиальных клеток молочной железы, фибробластов и лейкоцитов, т.е. являются специфическими низкомолекулярными ингибиторами метастазирования опухоли (Shan et al., 2005).

Вещество Y27632 является широко исследуемым ингибитором ROCK, который предлагают применять для лечения таких различных заболеваний, как реперфузионное повреждение, гипертония, инсульт, астма и рак (Narumiya et al., 2000). Ингибитор ROCK2 белумосудил является участником более десятка клинических исследований, посвященных различным заболеваниям, включая псориаз, склероз и реакцию “трансплантат против хозяина” (Diep et al., 2018).

Интересно, что одним из применений ингибиторов ROCK является получение ИПСК с помо-

щью тиазовивина. Он представляет собой малую селективную молекулу, которая непосредственно воздействует на ROCK и увеличивает экспрессию факторов плюрипотентности. Процесс получения ИПСК с использованием тиазовивина может быть проще, быстрее и дешевле, чем без него (Hwang et al., 2008; Mohseni et al., 2015).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзоре данные демонстрируют разнообразие функций малых ГТФаз семейства Rho в различных клеточных процессах. В целом изучение малых ГТФаз остается активной областью исследований и в будущем может привести к созданию новых методов диагностики и лечения различных заболеваний, включая рак, нейродегенеративные, аутоиммунные и сердечно-сосудистые.

Поскольку малые ГТФазы семейства Rho регулируют клеточную подвижность, они являются потенциальными мишенями для разработки новых методов эффективного подавления способности опухолевых клеток к инвазии и метастазированию; методов, основанных на применении ингибиторов как самих малых ГТФаз семейства Rho, так и ассоциированных с ними киназ.

Кроме того, такие ингибиторы могут оказывать дополнительный эффект путем блокирования ангиогенеза, сокращая поставку питательных веществ и кислорода в опухоль и тем самым замедляя ее рост.

Однако в настоящее время ингибиторы малых ГТФаз имеют ограниченную эффективность и могут вызывать нежелательные побочные эффекты, поэтому для разработки новых лекарственных препаратов необходимо более глубокое исследование механизмов регуляции малых ГТФаз семейства Rho в различных условиях и клетках разных типов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Госзадания (№ АААА-А19-119020-190093-9) Института цитологии РАН и поддержана Министерством науки и высшего образования РФ по проекту 15.БРК.21.0011 (соглашение № 075-15-2021-1063).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Полянская Г.Г. 2018. Сравнительный анализ характеристик линий мезенхимных стволовых клеток человека, полученных в коллекции культур клеток позвоночных (обзор). Клеточные культуры, вып. 34. С. 3. (Poljanskaya G.G. 2018. Comparative analysis of the lines of human mesenchymal stem cells derived in the collection of cell cultures of vertebrates (review). Collection "Cell cultures". No. 34. P. 3).
- Прайс К.М. 1997. Синтез теломерной С-цепи. Биохимия. Т. 62. № 11. С. 1423. (Price C.M. 1997. Synthesis of telomeric C-strand. Biochemistry (Moscow). V. 62. P. 1423).
- Хейфлик Л. 1997. Смертность и бессмертие на клеточном уровне. Биохимия. Т. 62. № 11. С. 1380. (Hayflick L. 1997. Mortality and immortality at the cellular level. Biochemistry (Moscow). V. 62. P. 1380).
- Abbi V., Piplani P. 2020. Rho-kinase (ROCK) inhibitors-a neuroprotective therapeutic paradigm with a focus on ocular utility. Curr. Med. Chem. V. 27. P. 2222. <https://doi.org/10.2174/0929867325666181031102829>
- Aguilar B. J., Zhao Y., Zhou H., Huo S., Chen Y.H., Lu Q. 2019. Inhibition of Cdc42-intersectin interaction by small molecule ZCL367 impedes cancer cell cycle progression, proliferation, migration, and tumor growth. Cancer Biol. Ther. V. 20 P. 740. <https://doi.org/10.1080/15384047.2018.1564559>
- Al-Azab M., Safi M., Idiattullina E., Al-Shaebi F., Zaky M. 2022. Aging of mesenchymal stem cell: machinery, markers, and strategies of fighting. Cell. Mol. Biol. Lett. V. 27. P. 69. <https://doi.org/10.1186/s11658-022-00366-0>
- Al-Koussa H., Atat O.E., Jaafar L., Tashjian H., El-Sibai M. 2020. The role of Rho GTPases in motility and invasion of glioblastoma cells. Anal. Cell. Pathol. V. 2020. P. 9274016. <https://doi.org/10.1155/2020/9274016>
- Amano M., Nakayama M., Kaibuchi K. 2010. Rho-kinase/ROCK: a key regulator of the cytoskeleton and cell polarity. Cytoskeleton, V. 67 P. 545. <https://doi.org/10.1002/cm.20472>
- Aslam M., Troidl C., Tanislav C., Rohrbach S., Gündüz D., Hamm, C.W. 2019. Inhibition of protein prenylation of GTPases alters endothelial barrier function. Int. J. Mol. Sci. V. 21. P. 2. <https://doi.org/10.3390/ijms21010002>
- Barbalata C.I., Tefas L.R., Achim M., Tomuta I., Porfire, A.S. 2020. Statins in risk-reduction and treatment of cancer. J. Clin. Oncol. V. 11. P. 573. <https://doi.org/10.5306/wjco.v11.i8.573>
- Barth H., Fischer S., Möglich A., Förtsch, C. 2015. Clostridial C3 toxins target monocytes/macrophages and modulate their functions. Front. Immunol. V. 6. P. 339. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00339>
- Berthold J., Schenkova K., Ramos S., Miura Y., Furukawa M., Aspenström P., Rivero F. 2008. Characterization of

- RhoBTB-dependent Cul3 ubiquitin ligase complexes — evidence for an autoregulatory mechanism. *Exp. Cell Res.* V. 314. P. 3453. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2008.09.005>
- Bobkov D., Polyanskaya A., Musorina A., Poljanskaya G. 2022. The RhoA nuclear localization changes in replicative senescence: new evidence from in vitro human mesenchymal stem cells studies. *Biocell.* V. 46. P. 2053. <https://doi.org/10.32604/biocell.2022.019469>
- Bobkov D., Polyanskaya A., Musorina A., Lomert E., Shabelnikov S. 2020. Replicative senescence in MSCWJ-1 human umbilical cord mesenchymal stem cells is marked by characteristic changes in motility, cytoskeletal organization, and RhoA localization. *Mol. Biol. Rep.* V. 47. P. 3867. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05476-6>
- Bodnar A.G., Ouellette M., Frolkis M., Holt S.E., Chiu C.P., Morin G.B., Harley C.B., Shay J.W., Lichtsteiner S., Wright W.E. 1998. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science.* V. 279. P. 349. <https://doi.org/10.1126/science.279.5349.349>
- Bolick S.C.E., Landowski T.H., Boulware D., Oshiro M.M., Ohkanda J., Hamilton A.D., Sebt S.M., Dalton W.S. 2003. The farnesyl transferase inhibitor, FTI-277, inhibits growth and induces apoptosis in drug-resistant myeloma tumor cells. *Leukemia.* V. 17. P. 451.
- Bos J.L., Rehmann H., Wittinghofer A. 2007. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins. *Cell.* V. 129. P. 865. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.018>
- Cabrera M., Echeverria E., Lenicov F.R., Cardama G., Gonzalez N., Davio C., Fernández N., Menna P.L. 2017. Pharmacological Rac1 inhibitors with selective apoptotic activity in human acute leukemic cell lines. *Oncotarget.* V. 8: 98509. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21533>
- Cai R., Wang Y., Huang Z., Zou Q., Pu Y., Yu C., Cai Z. 2021. Role of RhoA/ROCK signaling in Alzheimer's disease. *Behav. Brain Res.* V. 414: 113481. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113481>
- Cardama G.A., Gonzalez N., Ciarlantini M., Gandolfi Donadio, L., Comin M.J., Alonso D.F., Menna P.L., Gomez D.E. 2014. Proapoptotic and antiinvasive activity of Rac1 small molecule inhibitors on malignant glioma cells. *Onco Targets Ther.* V. 2021-2033. <https://doi.org/10.2147/OTT.S67998>
- Chen Y., Wang X., Wu Z., Jia S., Wan M. 2023. Epigenetic regulation of dental-derived stem cells and their application in pulp and periodontal regeneration. *Peer J.* V. 11: 14550. <https://doi.org/10.7717/peerj14550>
- Chircop M. 2014. Rho GTPases as regulators of mitosis and cytokinesis in mammalian cells. *Small GTPases.* V. 5: e29770. <https://doi.org/10.4161/sgtp.29770>
- Comunale F., Causeret M., Favard C., Cau J., Taulet N., Charrasse S., Gauthier-Rouvière C. 2007. Rac1 and RhoA GTPases have antagonistic functions during N-cadherin-dependent cell-cell contact formation in C2C12 myoblasts. *Biol. Cell.* V. 99. P. 503. <https://doi.org/10.1042/BC20070011>
- Cordover E., Wei, J., Patel C., Shan N. L., Gionco J., Sargsyan D., Wu R., Cai L., Kong A., Jacinto E., Minden A. 2019. KPT-9274, an inhibitor of PAK4 and NAMPT, leads to downregulation of mTORC2 in triple negative breast cancer cells. *Chem. Res. Toxicol.* V. 33. P. 482.
- Crosas-Molist E., Samain R., Kohlhammer L., Orgaz J. L., George S. L., Maiques O., Barcelo J., Sanz-Moreno V. 2022. Rho GTPase signaling in cancer progression and dissemination. *Physiol. Rev.* V. 102. P. 455.
- De Curtis I., Meldolesi J. 2012. Cell surface dynamics-how Rho GTPases orchestrate the interplay between the plasma membrane and the cortical cytoskeleton. *J. Cell. Sci.* V. 125. P. 4435. <https://doi.org/10.1242/jcs.108266>
- Debidda M., Williams D. A., Zheng Y. 2006. Rac1 GTPase regulates cell genomic stability and senescence. *J. Biol. Chem.* V. 281. P. 38519.
- Dharmawardhane S., Hernandez E., Vlaar C. 2013. Development of EHop-016: a small molecule inhibitor of Rac. *The Enzymes.* V. 33. P.117.
- Diep D.T.V., Hong K., Khun T., Zheng M., Ul-Haq A., Jun H.S., Kim Y.B., Chun K. H. 2018. Anti-adipogenic effects of KD025 (SLx-2119), a ROCK2-specific inhibitor, in 3T3-L1 cells. *Sci. Rep.* V. 8. P. 2477. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20821-3>
- Dill J., Patel, A. R., Yang X. L., Bachoo R., Powell C. M., Li S. 2010. A molecular mechanism for ibuprofen-mediated RhoA inhibition in neurons. *J. Neurosci.* V. 30. P. 963.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E. 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *Int. Soc. Cell. Ther. Position Statement.* *Cytother.* V. 8. P. 315.
- Dubash A. D., Guilluy C., Srougi M. C., Boulter E., Burrridge K., García-Mata R. 2011. The small GTPase RhoA localizes to the nucleus and is activated by Net1 and DNA damage signals. *PloS One.* V. 6: 7380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017380>
- East M. P., Asquith C. R. 2021. CDC42BPA/MRCK [alpha]: a kinase target for brain, ovarian and skin cancers. *Nat. Rev. Drug Discov.* V. 20. P. 167. <https://doi.org/10.1038/d41573-021-00023-9>
- Ellenbroek S. I., Collard J. G. 2007. Rho GTPases: functions and association with cancer. *Clin. Exp. Metastasis.* V. 24. P. 657.
- Florian M. C., Dörr K., Niebel A., Daria D., Schrezenmeier H., Rojewski M., Filippi M.D., Hasenberg A., Gunzer M., Scharffetter-Kochanek K., Zheng Y., Geiger H. 2012. Cdc42 activity regulates hematopoietic stem cell aging and rejuvenation. *Cell Stem Cell.* V. 10. P. 520. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.04.007>
- Florian M. C., Klenk J., Marka G., Soller K., Kiryakos H., Peter R., Herbolsheimer F., Rothenbacher D., Denking M., Geiger H. 2017. Expression and activity of the small RhoGTPase Cdc42 in blood cells of older adults are associated with age and cardiovascular disease. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* V. 72. P. 1196. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx091>
- Gilkes D.M., Xiang L., Lee S.J., Chaturvedi P., Hubbi M.E., Wirtz D., Semenza G. L. 2014. Hypoxia-inducible factors mediate coordinated RhoA-ROCK1 expression and signaling in breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 111. P. 384.

- Goh L.L., Manser E. 2012. The GTPase-deficient Rnd proteins are stabilized by their effectors. *J. Biol. Chem.* V. 287. P. 31311.
- Goodman K.B., Cui H., Dowdell S.E., Gaitanopoulos D.E., Ivy R.L., Sehon C.A., Stavenger R.A., Wang G.Z., Viet A.Q., Xu W., Ye G., Semus S.F., Evans C., Fries H.E., Jolivet L.J., et al. 2007. Development of dihydropyridone indazole amides as selective Rho-kinase inhibitors. *J. Med. Chem.* V. 50. P. 6.
- Gray J.L., von Delft F., Brennan P.E. 2020. Targeting the small GTPase superfamily through their regulatory proteins. *Angew. Chem. Int. Ed.* V. 59. P. 6342. <https://doi.org/10.1002/anie.201900585>
- Guiler W., Koehler A., Boykin C., Lu Q. 2021. Pharmacological modulators of small GTPases of rho family in neurodegenerative diseases. *Front. Cell. Neurosci.* V. 15. P. 661612. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.661612>
- Guo Y., Kenney S.R., Muller C.Y., Adams S., Rutledge T., Romero E., Murray-Krezan C., Prekeris R., Sklar L.A., Hudson L.G., Wandinger-Ness A. 2015. R-Ketorolac targets Cdc42 and Rac1 and alters ovarian cancer cell behaviors critical for invasion and metastasis. *Mol. Cancer Ther.* 2015. V. 14. P. 2215. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0419>
- Haga R. B., Ridley A. J. 2016. Rho GTPases: regulation and roles in cancer cell biology. *Small GTPases.* V. 7. P. 207. <https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1232583>
- Hanna S., El-Sibai M. 2013. Signaling networks of Rho GTPases in cell motility. *Cell. Signal.* V. 25. P. 1955. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.04.009>
- Hervé J.C., Bourmeyster N. 2015. Rho GTPases at the crossroad of signaling networks in mammals. *Small GTPases.* V. 6. P. 43. <https://doi.org/10.1080/21541248.2015.1044811>
- Hezan K., Mo R., Wang C., Yue L., Zongjin L. 2022. Anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells and their secretomes in Pneumonia. *Curr. Pharm. Biotechnol.* V. 23. P. 1153. <https://doi.org/10.2174/1389201022666210907115126>
- Hinde E., Yokomori K., Gaus K., Hahn K.M., Gratton E., 2014. Fluctuation-based imaging of nuclear Rac1 activation by protein oligomerisation. *Sci. Rep.* 2014. V. 4. P. 4219. <https://doi.org/10.1038/srep04219>
- Ho A.L., Brana I., Haddad R., Bauman J., Bible K., Oosting S., Wong D.J., Ahn M., Boni V., Even C., Fayette J., MD, Flor M.J., Harrington K., Hong D.S., Kim S.B., et al. 2021. Tipifarnib in head and neck squamous cell carcinoma with HRAS mutations. *J. Clin. Oncol.* V. 39. P. 1856. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02903>
- Hodge R.G., Ridley A.J. 2016. Regulating Rho GTPases and their regulators. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016. V. 17. P. 496. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.67>
- Hong L., Kenney S.R., Phillips G.K., Simpson G., Schroeder C.E., Nöth J., Romero E., Swanson S., Waller A., Strouse J.J., Carter M., Chigaev A., Ursu O., Oprea T., Hjelle B. 2013. Characterization of a Cdc42 protein inhibitor and its use as a molecular probe. *J. Biol. Chem.* V. 288. P. 8531.
- Humphries-Bickley T., Castillo-Pichardo L., Hernandez-O'Farrill E., Borrero-Garcia L.D., Forestier-Roman I., Gerena Y., Blanco M., Rivera-Robles M., Rodriguez-Medina J.R., Cubano L.A., Vlaar C.P., Dharmawardhane S. 2017. Characterization of a Dual Rac/Cdc42 Inhibitor MBQ-167 in Metastatic Cancer MBQ-167, a Rac/Cdc42 inhibitor in breast cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* V. 16. P. 805. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0442>
- Humphries B., Wang Z., Yang C. 2020. Rho GTPases: big players in breast cancer initiation, metastasis and therapeutic responses. *Cells.* V. 9. P. 2167. <https://doi.org/10.3390/cells9102167>
- Hwang K.C., Kim J.Y., Chang W., Kim D.S., Lim S., Kang S.M., Kim D.W. 2008. Chemicals that modulate stem cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 105. P. 7467.
- Jaffe A.B., Hall A. 2005. Rho GTPases: biochemistry and biology. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005. V. 21. P. 247.
- Jayasinghe M., Prathiraja O., Prashan B., Jena R., Silva M., Weerawarna P., Singhal M., Kayani A., Karnakoti S., Jain S. 2022. The role of mesenchymal stem cells in the treatment of type 1 diabetes. *Cureus.* V. 14. P. e27337. <https://doi.org/10.7759/cureus.27337>
- Jim Leu S.J., Sung J.S., Huang M.L., Chen M.Y., Tsai T.W. 2013. A novel anti-CCN1 monoclonal antibody suppresses Rac-dependent cytoskeletal reorganization and migratory activities in breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013. V. 434. P. 885.
- Yung Y.C., Stoddard N.C., Chun J. 2014. LPA receptor signaling: pharmacology, physiology, and pathophysiology. *J. Lipid Res.* V. 55. P. 1192.
- Kale V.P., Hengst J.A., Desai D.H., Dick T.E., Choe K.N., Colledge A.L., Takahashi Y., Sung S.S., Amin S.G., Yun G.K. 2014. A novel selective multikinase inhibitor of ROCK and MRCK effectively blocks cancer cell migration and invasion. *Cancer Letters.* V. 354. P. 299.
- Kaneko Y., Ohta M., Inoue T., Mizuno K., Isobe T., Tanabe S., Tanihara H. 2016. Effects of K-115 (Ripasudil), a novel ROCK inhibitor, on trabecular meshwork and Schlemm's canal endothelial cells. *Sci. Rep.* V. 6. P. 1. <https://doi.org/10.1038/srep19640>
- Kast R., Schirot H., Figueroa-Pérez S., Mittendorf J., Gnoth M.J., Apeler H., Lenz J., Franz J. K., Knorr A., Hütter J., Lobell M., Zimmermann K., Münter K., Augstein H., Ehmke H., Staschet J.P. 2007. Cardiovascular effects of a novel potent and highly selective azaindole-based inhibitor of Rho-kinase. *Br. J. Pharmacol.* V. 152. P. 1070.
- Kent D.G., Copley M.R., Benz C., Wöhrer S., Dykstra B.J., Ma E., Eaves C.J. 2009. Prospective isolation and molecular characterization of hematopoietic stem cells with durable self-renewal potential. *Blood.* V. 113. P. 6342.
- Kerber R.A., O'Brien E., Cawthon R.M. 2009. Gene expression profiles associated with aging and mortality in humans. *Aging Cell.* 2009. V. 8. P. 239. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2009.00467.x>
- Kim J., Islam R., Cho J.Y., Jeong H., Cap K.C., Park Y., Hossain A.J., Park J.B. 2018. Regulation of RhoA GTPase and various transcription factors in the RhoA pathway. *J. Cell. Physiol.* V. 233 P. 6381.
- Kristó I., Bajusz I., Bajusz C., Borkúti P., Vilmos P. 2016. Actin, actin-binding proteins, and actin-related proteins in the nucleus. *Histochem. Cell Biol.* V. 145. P. 373.

- Lanning C.C., Daddona J.L., Ruiz-Velasco R., Shafer S.H., Williams C.L. 2004. The Rac1 C-terminal polybasic region regulates the nuclear localization and protein degradation of Rac1. *J. Biol. Chem.* V. 279. P. 44197.
- Lawson C.D., Ridley A.J. 2018. Rho GTPase signaling complexes in cell migration and invasion. *J. Cell Biol.* V. 217. P. 447.
- Lee K.H., Koh M., Moon A. 2016. Farnesyl transferase inhibitor FTI-277 inhibits breast cell invasion and migration by blocking H-Ras activation. *Oncol. Lett.* V. 12. P. 2222. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4837>
- Leins H., Mulaw M., Eiwen K., Sakk V., Liang Y., Denkin-ger M., Geiger H., Schirmbeck R. 2018. Aged murine hematopoietic stem cells drive aging-associated immune remodeling. *Blood.* V. 132. P. 565.
- Li C., Zhen G., Chai Y., Xie L., Crane J. L., Farber E., Wan M. 2016. RhoA determines lineage fate of mesenchymal stem cells by modulating CTGF-VEGF complex in extracellular matrix. *Nat. Commun.* V. 7. P. 11455. <https://doi.org/10.1038/ncomms11455>
- Liao J. K., Seto M., Noma K. 2007. Rho kinase (ROCK) inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* V. 50. P. 17.
- Lin B. J., Tsao S. H., Chen A., Hu S. K., Chao L., Chao P. H. G. 2017. Lipid rafts sense and direct electric field-induced migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 114. P. 8568.
- Lin T., Ambasadhan R., Yuan X., Li W., Hilcove S., Abuja-rour R., Ding S. 2009. A chemical platform for improved induction of human iPSCs. *Nat. Methods.* V. 6. P. 805. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1393>
- Linseman D. A., Lu Q. 2023. Rho family GTPases and their effectors in neuronal survival and neurodegeneration. *Front. Cell. Neurosci.* V. 17. P. 67.
- Liu Y., Schwam J., Chen Q. 2022. Senescence-associated cell transition and internation (SACTAI): a proposed mechanism for tissue aging, repair and degeneration. *Cells.* V. 11. P. 1089. <https://doi.org/10.3390/cells11071089>
- Liu H. W., Halayko A. J., Fernandes D. J., Harmon G. S., McCauley J. A., Kocieniewski P., Solway J. 2003. The RhoA/Rho kinase pathway regulates nuclear localization of serum response factor. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* V. 29. P. 39.
- Löhn M., Plettenburg O., Ivashchenko Y., Kannt A., Hofmeis-ter A., Kadereit D., Ruetten H. 2009. Pharmacological characterization of SAR407899, a novel rho-kinase inhibitor. *Hypertension.* V. 54. P. 676. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134353>
- Loirand G., Guérin P., Pacaud P. 2006. Rho kinases in car-diovascular physiology and pathophysiology. *Circ. Res.* V. 98. P. 322.
- Ma N., Xu E., Luo Q., Song G. 2023. Rac1: A regulator of cell migration and a potential target for cancer therapy. *Molecules.* V. 28. P. 2976. <https://doi.org/10.3390/mol-ecules28072976>
- Magalhaes Y. T., Farias J. O., Silva L. E., Forti F. L. 2021. GTPases, genome, actin: a hidden story in DNA damage response and repair mechanisms. *DNA repair.* V. 100: 103070. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2021.103070>
- Maldonado M. D. M., Dharmawardhane S. 2018. Targeting rac and Cdc42 GTPases in cancer. *Cancer Res.* V. 78. P. 3101.
- Maldonado M. D. M., Medina J. I., Velazquez L., Dharmawardhane S. 2020. Targeting Rac and Cdc42 GEFs in metastatic cancer. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 8. P. 201. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00201>
- Malhi M., Norris M. J., Duan W., Moraes T. J., Maynes J. T. 2021. Statin-mediated disruption of Rho GTPase prenylation and activity inhibits respiratory syncytial virus infection. *Commun. Biol.* V. 4. P. 1239. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02754-2>
- Matsumura T., Zerrudo Z., Hayflick L. 1979. Senescent human diploid cells in culture: survival, DNA synthesis and morphology. *J. Gerontol.* V. 34. P. 328.
- McLeod R., Kumar R., Papadatos-Pastos D., Mateo J., Brown J. S., Garces A. H. I., Banerji U. 2020. First-in-human study of AT13148, a dual ROCK-AKT inhibitor in patients with solid tumors. *Clin. Cancer Res.* V. 26. P. 4777. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-0700>
- Mizukawa B., Wei J., Shrestha M., Wunderlich M., Chou F. S., Griesinger A., Mulloy J. C. 2011. Inhibition of Rac GTPase signaling and downstream prosurvival Bcl-2 proteins as combination targeted therapy in MLL-AF9 leukemia. *Blood.* V. 118. P. 5235.
- Mohseni R., Shoaee-Hassani A., Verdi J. 2015. Reprogramming of endometrial adult stromal cells in the presence of a ROCK inhibitor, thiazovivin, could obtain more efficient iPSCs. *Int. J. Cell Biol.* V. 39. P. 515. <https://doi.org/10.1002/cbin.10411>
- Moissoglu K., Schwartz M.A. 2014. Spatial and temporal control of Rho GTPase functions. *Cell. Logist.* V. 4: e943618. <https://doi.org/10.4161/21592780.2014.943618>
- Mosaddeghzadeh N., Ahmadian M.R. 2021 The Rho family GTPases: mechanisms of regulation and signaling. *Cells.* 2021. V. 10. P. 1831. <https://doi.org/10.3390/cells10071831>
- Mou C., Wang X., Li W., Li Z., Liu N., Xu Y. 2023. Efficacy of mesenchymal stromal cells intraspinal transplantation for patients with different degrees of spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. *Cytotherapy.* V. 25. P. 530. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2023.01.012>
- Narumiya S., Ishizaki T., Ufthata M. 2000. Use and properties of ROCK-specific inhibitor Y-27632. *Meth. Enzymol.* V. 325. P. 273.
- Narumiya S., Thumkeo D. 2018. Rho signaling research: history, current status and future directions. *FEBS lett.* V. 592. P. 1763.
- Navarro L., Chen X., Viviescas L.T., Ardila-Roa A., Luna-Gonzalez M., Sossa C., Arango-Rodriguez M. 2022. Mesenchymal stem cells for critical limb ischemia: their function, mechanism, and therapeutic potential. *Stem Cell Res. Ther.* V. 13. P. 345. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03043-3>
- Navarro-Lérida I., Sánchez-Álvarez M., del Pozo M.Á., 2021. Post-translational modification and subcellular compartmentalization: emerging concepts on the regulation and physiopathological relevance of RhoGTPases. *Cells.* 2021. V. 10. P. 1990. <https://doi.org/10.3390/cells10081990>

- Nguyen L. K., Kholodenko B. N., Von Kriegsheim A. 2018. Rac1 and RhoA: networks, loops and bistability. *Small GTPases*. V. 9. P. 316. <https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1224399>
- Okura H., Golbourn B. J., Shahzad U., Agnihotri S., Sabha N., Krieger J. R., Rutka J. T. 2016. A role for activated Cdc42 in glioblastoma multiforme invasion. *Oncotarget*. V. 7. P. 56958. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10925>
- Onesto C., Shutes A., Picard V., Schweighoffer F., Der C. J. 2008. Characterization of EHT 1864, a novel small molecule inhibitor of Rac family small GTPases. *Meth. Enzymol*. V. 439. P. 111.
- Özcan S., Alessio N., Acar M.B., Mert E., Omerli F., Peluso G., Galderisi U. 2016. Unbiased analysis of senescence associated secretory phenotype (SASP) to identify common components following different genotoxic stresses. *Aging (Albany NY)*. V. 8. P. 1316. <https://doi.org/10.18632/aging.100971>
- Park S., Kim D., Jung Y. G., Roh S. 2015. Thiazovivin, a Rho kinase inhibitor, improves stemness maintenance of embryo-derived stem-like cells under chemically defined culture conditions in cattle. *Anim. Reprod. Sci*. V. 161. P. 47. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.08.003>
- Patel R. A., Forinash K. D., Pireddu R., Sun Y., Sun N., Martin M. P., Sebt S. M. 2012. RKI-1447 is a potent inhibitor of the Rho-associated ROCK kinases with anti-invasive and antitumor activities in breast cancer RKI-1447, a potent ROCK inhibitor with antitumor activity. *Cancer Res*. V. 72. P. 5025. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-0954>
- Pawelec G. P. 2018. CASIN the joint: immune aging at the stem cell level. *Blood. The J. Am. Soc. Hematol*. V. 132. P. 553.
- Payapilly A., Malliri A. 2018. Compartmentalisation of RAC1 signalling. *Curr. Opin. Cell Biol*. 2018. V. 54. P. 50. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2018.04.009>
- Pelish H. E., Peterson J. R., Salvarezza S. B., Rodriguez-Boulan E., Chen J. L., Stamnes M., Kirchhausen T. 2006. Scramine inhibits Cdc42-dependent functions in cells and Cdc42 activation *in vitro*. *Nat. Chem. Biol*. V. 2. P. 39. <https://doi.org/10.1038/nchembio751>
- Pischiutta F., Caruso E., Cavaleiro H., Salgado A., Loane D., Zanier E. 2022. Mesenchymal stromal cell secretome for traumatic brain injury: Focus on immunomodulatory action. *Exp. Neurol*. V. 357: 114199. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2022.114199>
- Poljanskaya G.G., Bobkov D.E., Koltsova A.M., Musorina A.S., Mikhailova N.A. 2022. Creation, working principles, development of applied and scientific activities of the Collection of cell cultures of vertebrate. (review). *Bio. Comm*. V. 67. P. 312. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2022.406>
- Porter A. P., Papaioannou A., Malliri A. 2016. Deregulation of Rho GTPases in cancer. *Small GTPases*. V. 7. P. 123. <https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1173767>
- Prieto-Dominguez N., Parnell C., Teng Y. 2019. Drugging the small GTPase pathways in cancer treatment: promises and challenges. *Cells*. V. 8. P. 255. <https://doi.org/10.3390/cells8030255>
- Qadir M. I., Parveen A., Ali M. 2015. Cdc42: role in cancer management. *Chem. Biol. Drug Des*. V. 86. P. 432.
- Rajakylä E.K., Vartiainen M.K. 2011. Rho, nuclear actin, and actin-binding proteins in the regulation of transcription and gene expression. *Small GTPases*. 2014. V. 5. P. e27539. <https://doi.org/10.4161/sgtp.27539>
- Ramachandran C., Patil R.V., Combrink K., Sharif N.A., Srinivas S.P. 2011. Rho-Rho kinase pathway in the actomyosin contraction and cell-matrix adhesion in immortalized human trabecular meshwork cells. *Mol. Vision*. V. 17. P. 1877. <https://doi.org/PMC3144732>
- Rane C.K., Minden A. 2014. P21 activated kinases. *Small GTPases*. 2014. V. 5. P. e28003. <https://doi.org/10.4161/sgtp.28003>
- Ratushnyy A., Ezdakova M., Buravkova L. 2020. Secretome of senescent adipose-derived mesenchymal stem cells negatively regulates angiogenesis. *Int. J. Mol. Sci*. V. 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21051802>
- Ren R., Humphrey A. A., Koczynski C., Gong H. 2023. Rho kinase inhibitor AR-12286 reverses steroid-induced changes in intraocular pressure, effective filtration areas, and morphology in mouse eyes. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. V. 64. P. 7. <https://doi.org/10.1167/iov.64.2.7>
- Ridley A.J. 2015. Rho GTPase signalling in cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol*. 2015. V. 36. P. 103. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.08.005>
- Rotblat B., Ehrlich M., Haklai R., Kloog, Y. 2008. The Ras inhibitor farnesylthiosalicylic acid (Salirasib) disrupts the spatiotemporal localization of active Ras: a potential treatment for cancer. *Meth. Enzymol*. V. 439. P. 467–489. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(07\)00432-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(07)00432-6)
- Sadok A., Marshall C.J. 2014. Rho GTPases: Masters of cell migration. *Small GTPases*. V. 5. P. e983878. <https://doi.org/10.4161/sgtp.29710>
- Sahai E., Olson M.F. 2006. Purification of TAT-C3 exoenzyme. *Meth. Enzymol*. V. 406. P. 128.
- Samsonraj R., Law S., Chandra A., Pignolo R. 2023. An unbiased proteomics approach to identify the senescence-associated secretory phenotype of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Bone Rep*. V. 18. P. 101674. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2023.101674>
- Sandrock K., Bielek H., Schradi K., Schmidt G., Klugbauer N. 2010. The nuclear import of the small GTPase Rac1 is mediated by the direct interaction with karyopherin $\alpha 2$. *Traffic*. V. 11. P. 198. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.01015.x>
- Santos G. L., Hartmann S., Zimmermann W. H., Ridley A., Lutz S. 2019. Inhibition of Rho-associated kinases suppresses cardiac myofibroblast function in engineered connective and heart muscle tissues. *J. Mol. Cell. Cardiol*. V. 134. P. 13. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.06.015>
- Santos J. C., Profitós-Pelejà N., Sánchez-Vinces S., Roué G. 2023. RHOA therapeutic targeting in hematological cancers. *Cells*. V. 12. P. 433. <https://doi.org/10.3390/cells12030433>
- Sarrabayrouse G., Pich C., Teiti I., Tilkin-Mariame A.F. 2017. Regulatory properties of statins and Rho GTPases prenylation inhibitors to stimulate melanoma immunogenicity and promote anti-melanoma immune

- response. *Int. J. Cancer*. V. 140. P. 747. <https://doi.org/10.1002/ijc.30422>
- Schmidt S. I., Blaabjerg M., Freude K., Meyer M. 2022. RhoA signaling in neurodegenerative diseases. *Cells*. V. 11. P. 1520. <https://doi.org/10.3390/cells11091520>
- Semenova E., Grudniak M. P., Machaj E.K., Bocian K., Chroscinska-Krawczyk M., Trochonowicz M., Stepaniec I.M., Murzyn M., Zagorska K.E., Boruczkowski D., Kolanowski T.J., Oldak T., Rozwadowska N. 2021. Mesenchymal stromal cells from different parts of umbilical cord: approach to comparison and characteristics. *Stem Cell Rev. Rep.* V. 17. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s12015-021-10157-3>
- Shan D., Chen L., Njardarson J.T., Gaul C., Ma X., Danishefsky S.J., Huang X.Y. 2005. Synthetic analogues of migrastatin that inhibit mammary tumor metastasis in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. P. 3772.
- Shang X., Marchioni F., Evelyn C.R., Sipes N., Zhou X., Seibel W., Wortman M., Zheng Y., 2013. Small-molecule inhibitors targeting G-protein-coupled Rho guanine nucleotide exchange factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. V. 110. P. 3155.
- Shang X., Marchioni F., Sipes N., Evelyn C. R., Jerabek-Willemsen M., Duhr S., Seibel W., Wortman M., Zheng Y. 2012. Rational design of small molecule inhibitors targeting RhoA subfamily Rho GTPases. *Chem. Biol.* V. 19. P. 699. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.05.009>
- Shi J., Wei L. 2013. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology: the effect of fasudil. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* V. 62. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3182a3718f>
- Shimizu A., Nakayama H., Wang P., König C., Akino T., Sandlund J., Klagsbrun M. 2013. Netrin-1 promotes glioblastoma cell invasiveness and angiogenesis by multiple pathways including activation of RhoA, cathepsin B, and cAMP-response element-binding protein. *J. Biol. Chem.* V. 288. P. 2210.
- Shin S., Lee J., Kwon Y., Park K-S., Jeong J-H., Choi S-J., Bang S., Chang J., Lee C. 2021. Comparative proteomic analysis of the mesenchymal stem cells secretome from adipose, bone marrow, placenta and Wharton's jelly. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 845. <https://doi.org/10.3390/ijms22020845>
- Sousa A. Coelho P., Leite F., Teixeira C., Rocha A., Santos I., Baylina P., Fernandes R., Soares R., Costa R, Gomes A. 2023. Impact of umbilical cord mesenchymal stromal/stem cell secretome and cord blood serum in prostate cancer progression. *Hum. Cell*. V. 36. P. 1160.
- Spiering D., Hodgson L. 2011. Dynamics of the Rho-family small GTPases in actin regulation and motility. *Cell Adh. Migr.* V. 5. P. 170. <https://doi.org/10.4161/cam.5.2.14403>
- Surviladze Z., Waller A., Wu Y., Romero E., Edwards B.S., Wandinger-Ness A., Sklar L.A. 2010. Identification of a small GTPase inhibitor using a high-throughput flow cytometry bead-based multiplex assay. *J. Biomol. Screen.* V. 15. P. 10. <https://doi.org/10.1177/1087057109352240>
- Szczepanowska J. 2009. Involvement of Rac/Cdc42/PAK pathway in cytoskeletal rearrangements. *Acta Biochimica Polonica*. V. 56. P. 225.
- Taniuchi K., Yokotani K., Saibara T. 2012. BART inhibits pancreatic cancer cell invasion by Rac1 inactivation through direct binding to active Rac1. *Neoplasia*. V. 14. P. 440. <https://doi.org/10.1593/neo.12352>
- Tong J., Li L., Ballermann B., Wang Z. 2016. Phosphorylation and activation of RhoA by ERK in response to epidermal growth factor stimulation. *PLoS One*. V. 11. P. e0147103. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147103>
- Turano E., Scambi I., Virla F., Bonetti B., Mariotti R. 2023. Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells: towards novel therapeutic strategies for neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* V. 24. P. 2917. <https://doi.org/10.3390/ijms24032917>
- Turinetto V., Vitale E., Giachino C. 2016. Senescence in human mesenchymal stem cells: Functional changes and implications in stem cell-based therapy. *Int. J. Mol. Sci.* V. 17. P. 1164. <https://doi.org/10.3390/ijms17071164>
- Ueyama T., Geiszt M., Leto T.L. 2006. Involvement of Rac1 in activation of multicomponent Nox1- and Nox3-based NADPH oxidases. *Mol. Cell. Biol.* V. 26. P. 2160. <https://doi.org/10.1128/MCB.26.6.2160-2174.2006>
- Umbayev B., Yermekova A., Nessipbekova A., Syzdykova A., Askarova S. 2023. Role of a small GTPase Cdc42 in aging and age-related diseases. *Biogerontology*. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s10522-022-10008-9>
- Unbekandt M., Croft D. R., Crighton D., Mezna M., McArthur D., McConnell P., Olson M. F. 2014. A novel small-molecule MRCK inhibitor blocks cancer cell invasion. *Cell Commun. Signal.* V. 12. P. 1. <https://doi.org/10.1186/s12964-014-0054-x>
- Unsal-Kacmaz K., Ragunathan S., Rosfjord E., Dann S., Upeslakis E., Grillo M., Hernandez R., Mack F., Klippel A. 2012. The interaction of PKN3 with RhoC promotes malignant growth. *Mol. Oncol.* V. 6. P. 284. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.12.001>
- Van Aelst L., D'Souza-Schorey C. 1997. Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev.* V. 18. P. 2295. <https://doi.org/10.1101/gad.11.18.2295>
- Van Buul J. D., Geerts D., Huveneers S. 2014. Rho GAPs and GEFs: controlling switches in endothelial cell adhesion. *Cell Adh. Migr.* V. 8. P. 108. <https://doi.org/10.4161/cam.27599>
- Vidal C., Geny B., Melle J., Jandrot-Perrus M., Fontenay-Roupie M. 2002. Cdc42/Rac1-dependent activation of the p21-activated kinase (PAK) regulates human platelet lamellipodia spreading: implication of the cortical-actin binding protein cortactin. *Blood*. V. 100. P. 4462.
- Wang L., Yang L., Tian L., Mai P., Jia S., Yang L., Li L. 2017. Cannabinoid receptor 1 mediates homing of bone marrow-derived mesenchymal stem cells triggered by chronic liver injury. *J. Cell. Physiol.* V. 232. P. 110.
- Williams C.L. 2003. The polybasic region of Ras and Rho family small GTPases: a regulator of protein interactions and membrane association and a site of nuclear localization signal sequences. *Cell. Signal.* V. 15. P. 1071. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(03\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(03)00098-6)
- Xin Y.L., Yu J.Z., Yang X.W., Liu C.Y., Li Y.H., Feng L., Chai Z., Wan-Fang Yang W.F., Qing Wang Q., Jiang W.J., Zhang G.X., Xiao B.G., Ma C.G. 2015. FSD-C10: A more promising novel ROCK inhibitor than Fasudil for

- treatment of CNS autoimmunity. *Bioscience Rep.* V. 35. <https://doi.org/10.1042/BSR20150032>
- Xu J., Li Y., Yang X., Chen Y., Chen M. 2013. Nuclear translocation of small G protein RhoA via active transportation in gastric cancer cells. *Oncol. Rep.* V. 30. P. 1878. <https://doi.org/10.3892/or.2013.2638>
- Yang B., Radel C., Hughes D., Kelemen S., Rizzo V. 2011. p190 RhoGTPase-activating protein links the β 1 integrin/caveolin-1 mechanosignaling complex to RhoA and actin remodeling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* V. 31. P. 376. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.217794>
- Yang Y., Zhang W., Wang X., Yang J., Cui Y., Song H., Li W., Li W., Wu L., Du Y., He Z., Shi J., Zhang J. 2023. A passage-dependent network for estimating the in vitro senescence of mesenchymal stromal/stem cells using microarray, bulk and single cell RNA sequencing. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 11: 998666. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.998666>
- Zhang Q. G., Wang R., Han D., Dong Y., Brann D. W. 2009. Role of Rac1 GTPase in JNK signaling and delayed neuronal cell death following global cerebral ischemia. *Brain Res.* V. 1265. P. 138.
- Zhang Z., Liu M., Zheng Y. 2021. Role of Rho GTPases in stem cell regulation. *Biochem. Soc. Trans.* V. 49. P. 2941. <https://doi.org/10.1042/BST20211071>
- Zins K., Lucas T., Reichl P., Abraham D., Aharinejad S. 2013. A Rac1/Cdc42 GTPase-specific small molecule inhibitor suppresses growth of primary human prostate cancer xenografts and prolongs survival in mice. *PloS one.* V. 8. P. 74924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074924>

THE ROLE OF THE Rho FAMILY SMALL GTPases IN REGULATION OF NORMAL AND PATHOLOGICAL PROCESSES

D. E. Bobkov^{a, b, c, *}, A. V. Lukacheva^a, A. I. Gorb^d, G. G. Poljanskaya^a

^a Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064, Russia

^b Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341, Russia

^c Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, 197376, Russia

^d Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 194064, Russia

*E-mail: bobkov@incras.ru

Small GTPases are small (about 21 kDa) proteins that regulate many biological processes, such as vesicle transport, cell division cycle, cell migration, invasion, adhesion, proliferation and DNA repair, they are involved in carcinogenesis and neurodegenerative diseases. Some of these proteins, like those in the Rho family, are important regulators of the actin cytoskeleton, which has an impact on cell adhesion and motility. The review considers normal and pathological processes in human cells, which are regulated by the Rho family small GTPases. Particular attention is paid to inhibitors of small GTPases and their use in the treatment of various diseases.

Keywords: cytoskeleton, small GTPases, Rho, ROCK, mesenchymal stem cells, replicative senescence, carcinogenesis, invasion