

## Potensi *X-Box Binding Protein* (XBP1) dalam Meregulasi Stres Retikulum Endoplasma sebagai Pencegahan Diabetik Retinopati pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2

Ayu Widyanti,\* Mien Dwi Cahyani,\* Dian Pratita Lestari\*

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Korespondensi: nym\_ayuwidyanti@yahoo.com

### ABSTRAK

Diabetik retinopati (DR) merupakan komplikasi yang paling sering terjadi pada penderita diabetes dan penyebab utama kebutaan pasien usia 20-64 tahun populasi di Amerika Serikat. Insiden diabetik retinopati meningkat menjadi 50% setelah 10 tahun menderita DM2 dan menjadi 90% setelah 25 tahun. Kasus kebutaan total akibat diabetik retinopati ditemukan setelah 20 tahun menderita DM dengan angka kebutaan DM2 mencapai 60%. Modalitas pengobatan DR selama ini memerlukan biaya yang relatif tinggi dan menyebabkan komplikasi. Stres Retikulum Endoplasma (RE) dan inflamasi adalah dua faktor penting dalam patogenesis DR karena berpotensi merusak BRB, tanda patologis DR stadium awal. *X-Box Binding Protein 1* (XBP1) yaitu gen pengkode faktor transkripsi yang meregulasi stres RE mampu memberikan perlindungan terhadap sistem vaskuler retina dengan mengatasi stres RE serta sebagai agen anti inflamasi yang nantinya mampu mencegah kerusakan BRB. XBP1 dapat mengatasi Stres RE dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD dan meningkatkan protein yang terlibat dalam ERAD dengan berikatan pada protein yang misfold. XBP1 dapat menurunkan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 dan NF- $\kappa$ B yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$  dan IKK. Dalam pengadministrasiannya, XBP1 dimasukkan ke dalam adenovirus vektor kemudian diinjeksikan secara intravitreal pada penderita DM2.

**Kata kunci:** Mata, Diabetes, Komplikasi, Terapi Gen

### ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is the major complication of diabetes and the leading cause of blindness in aged 20 to 64 years of United States population. The incidence of DR increased to 50% after 10 years of suffering from T2DM and to 90% after 25 years. Total cases of blindness due to DR were found 60% after 20 years. Treatment of DR requires high costs and cause complications. Endoplasmic reticulum (ER) stress and inflammation are two important factors in the pathogenesis of DR that can potentially damage BRB, a pathological signs in early stage of DR. *X-Box Binding Protein 1* (XBP1) gene encoding the transcription factors that regulate ER stress is able to provide protection against retinal vascular system to cope with stress and as an inflammatory agent to prevent BRB damage. XBP1 can cope with stress by increasing the expression chaperon ER and activation of genes involved in ERAD also increases proteins involved in ERAD by binding to proteins that misfold. XBP1 can decrease the expression of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and NF- $\kappa$ B induced by TNF- $\alpha$  and IKK. In its administration, XBP1 inserted into an adenovirus vector and then injected intravitreal in patients with T2DM

**Keywords:** Eye, Diabetic, Complication, Gene Therapy

### PENDAHULUAN

Diabetik retinopati (DR) merupakan penyebab utama kebutaan pasien usia 20-64 tahun populasi di Amerika Serikat. DR ditandai dengan kerusakan endotel vaskuler retina, gangguan suplai darah, dan degenerasi neuron retina. Insiden diabetik retinopati jarang ditemukan pada satu

tahun pertama DM2, tetapi insidennya meningkat menjadi 50% setelah 10 tahun menderita DM2 dan menjadi 90% setelah 25 tahun.<sup>2</sup>

Modalitas pengobatan DR selama ini seperti fotokoagulasi laser dan vitrektomi menunjukkan hasil yang kurang memuaskan. Selain karena biaya yang relatif tinggi, beberapa teknik tersebut juga

memiliki peluang terjadinya komplikasi sedang hingga parah.<sup>1</sup> Merujuk pada permasalahan di atas, dapat disimpulkan bahwa DR merupakan masalah kesehatan yang mendesak (*global emergency*) akibat progresivitasnya yang menyebabkan morbiditas yang tinggi dan mengarah pada kebutaan total, kondisi ini bersifat *irreversible* terhadap pengobatan.

Patogenesis DR melibatkan inflamasi, kerusakan *blood-retinal barrier* (BRB), dan perubahan pembuluh darah retina.<sup>3</sup> Kondisi yang dikenal sebagai stres retikulum endoplasma berperan dalam inflamasi retina serta kebocoran vaskuler yang memicu kerusakan BRB di DR.<sup>4</sup> Selama stres retikulum endoplasma berlangsung, produksi *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) oleh astrosit dan sel Muller meningkat. TNF- $\alpha$  kemudian mengaktifkan *Nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B) yaitu suatu faktor transkripsi yang berperan penting dalam jalur pensinyalan inflamasi. Kehadiran dari faktor transkripsi ini meningkatkan ekspresi molekul adesi yaitu *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1).<sup>5</sup> Molekul adesi yang diproduksi memediasi adesi leukosit ke sel endotelial retina sehingga menginduksi kerusakan BRB yang mengarah pada terjadinya diabetik retinopati. Selain meningkatkan faktor inflamasi NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  juga meningkatkan induksi pengekspresian *nitric oxide synthase* (NOS) yaitu faktor proinflamasi. Berdasarkan fakta-fakta tersebut, stres RE dan inflamasi adalah dua faktor penting dalam patogenesis DR karena berpotensi merusak BRB, tanda patologi DR stadium awal.

Terapi biomolekuler dengan *X-Box Binding Protein 1* (XBP1), yaitu gen pengkode faktor transkripsi yang meregulasi stres RE merupakan suatu bentuk pencegahan terhadap diabetik retinopati pada penderita DMT2. Administrasinya ke dalam tubuh mampu memberikan perlindungan terhadap sistem vaskuler retina dengan mengatasi stres

retikulum endoplasma (RE) serta sebagai agen anti inflamasi yang nantinya mampu mencegah kerusakan BRB. Oleh karena itu, aktivasi XBP1 memiliki potensi sebagai strategi terapeutik yang efektif mencegah kerusakan pembuluh darah retina yang menjadi patologi awal komplikasi diabetik retinopati pada pasien DMT2.<sup>6,7</sup>

## PEMBAHASAN

### Mekanisme Kerja *X-Box Binding Protein 1* (XBP1) sebagai Strategi Pencegahan Diabetik Retinopati pada Penderita DMT2

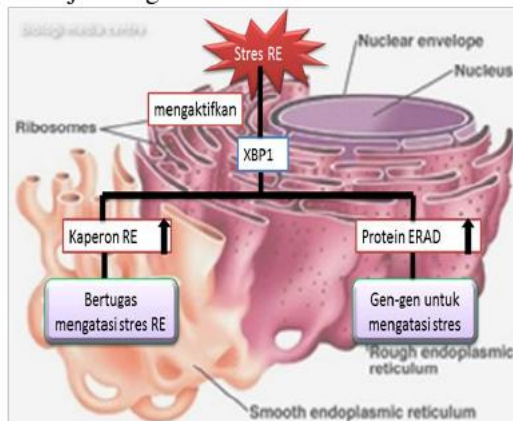
Aplikasi esensial pencegahan diabetik retinopati melibatkan prinsip dasar yang berhubungan dengan patogenesisnya yakni pencegahan terhadap inflamasi untuk menghindari kerusakan pembuluh di retina. Prinsip ini berkaitan erat dengan mekanisme XBP1 dalam mengatasi stres RE. Strategi tersebut melibatkan XBP1 dalam mengatasi stres RE serta sebagai agen anti inflamasi. Mekanisme tersebut akan dijelaskan lebih lanjut sebagai berikut:

#### 1 Mekanisme Kerja XBP1 dalam mengatasi stres RE

Rasio proinsulin:insulin meningkat pada pasien DMT2. Selain itu, terjadi penumpukan *reactive oxygen species* (ROS).<sup>8,9</sup> Kedua hal ini mendasari stres retikulum endoplasma (RE). Stres RE di retina menimbulkan inflamasi serta disfungsi vaskuler, keduanya menginduksi kerusakan *blood retinal barrier* (BRB). Respon adaptif terhadap stres RE dikenal dengan istilah *unfolded protein response* (UPR).<sup>8,9</sup>

XBP1 adalah koordinator master dari UPR.<sup>6</sup> Mekanisme kerja XBP1 dalam mengatasi stres RE yaitu dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD. Kaperon RE mengatasi stres RE

dengan berikatan pada protein yang *misfold* atau *unfold* atau dengan cara menghentikan translasi sehingga stres RE akan berkurang.<sup>8,10</sup> Aktivasi XBP1 juga meningkatkan protein yang terlibat dalam ERAD.<sup>11</sup> Gen-gen ini memainkan peran penting dalam memelihara kelangsungan hidup sel selama berbagai kondisi stres, seperti defisiensi nutrisi, hipoksia, stres oksidatif, dan inflamasi.<sup>8,10</sup> Melalui pengaktifan gen-gen ini XBP1 bekerja mengatasi stres RE.



Gambar 1. Peran XBP1 dalam Mengatasi stres Retikulum Endoplasma

## 2 Mekanisme Kerja XBP1 sebagai Agen Anti Inflamasi

Mekanisme XBP1 sebagai agen anti inflamasi tidak terlepas dari pembahasan mengenai stres RE. Inflamasi pada retina diabetik disebabkan oleh proses adesi leukosit ke *human retinal microvascular endothelial cells / HREC* (leukostasis), yang menstimulasi kerusakan BRB.<sup>12,13</sup> Pengikatan leukosit ke molekul adesi pada permukaan sel endotel diperlukan untuk leukostasis. Selama diabetes, sel endotel aktif mengekspresikan molekul adesi dengan jumlah yang tinggi.<sup>13,14</sup> Level molekul adesi *soluble intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1) dalam vitreous pasien DR meningkat drastis, diikuti oleh peningkatan sel inflamasi termasuk neutrofil, makrofag, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> dalam pembuluh darah

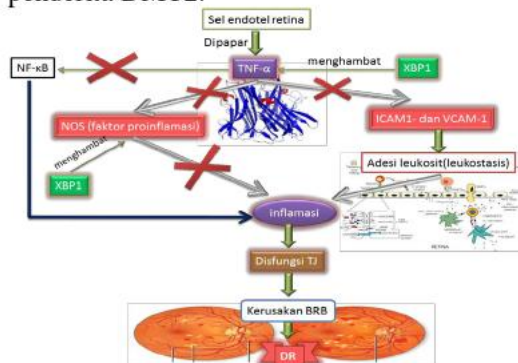
retina.<sup>15</sup> Di antara stimulator molekul adesi, *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin proinflamasi yang diinduksi di sistem pembuluh retina oleh kondisi diabetes. Paparan sel endotel retina terhadap TNF- $\alpha$  menginduksi aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- $\kappa$ B), peningkatan ekspresi ICAM-1, dan disfungsi pada *tight junction* penyusun BRB internal. Penghambatan fungsi TNF- $\alpha$  menurunkan leukostasis yang diasosiasikan dengan kebocoran vaskuler dan menghapus nonperfusi kapiler retina diabetik yang berarti bahwa sitokin ini berperan dalam inflamasi retina dan cedera sel endotelial pasien DR.<sup>9</sup>

Mekanisme XBP1 sebagai agen anti inflamasi melibatkan efeknya dalam menurunkan molekul adesi, NF- $\kappa$ B, dan NOS yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$ , tiga faktor penting inflamasi pada retina diabetik. Langkah sentral yang mengarah pada kerusakan BRB oleh sitokin inflamasi di sel endotel yaitu induksi ekspresi molekul adesi, dalam pembahasan kali ini yaitu ICAM-1 dan VCAM-1. Penelitian yang dilakukan Joshua Wang dkk. menunjukkan bahwa peningkatan kadar TNF- $\alpha$  sebanding dengan peningkatan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1. TNF- $\alpha$  meningkatkan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 dengan meningkatkan glikosilasi kedua molekul adesi tersebut. Studi ini mengekspresi secara berlebih XBP1 pada HREC dengan menginfeksi sel oleh adenovirus yang mengkode XBP1 (Ad-XBP1s), diikuti oleh pemberian TNF- $\alpha$ . Hasil studi ini menunjukkan TNF- $\alpha$  tidak mampu menginduksi ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel tersebut. Depleksi ICAM-1 terbukti mampu menurunkan leukostasis dan disfungsi vaskuler.<sup>13</sup> Sedangkan depleksi VCAM-1 menurunkan adesi leukosit dan rolling pada sirkulasi mikro dan makro.<sup>16</sup> Hal ini mengindikasikan bahwa XBP1 mampu menghambat ekspresi molekul adesi dan adesi leukosit ke sel endotel.<sup>6</sup>

TNF- $\alpha$  meningkatkan fosforilasi I $\kappa$ B Kinase (IKK), berperan pada patogenesis

DR. Aktivasi IKK adalah langkah sentral yang mengarah pada pengaktifan NF- $\kappa$ B dengan memfosforilasi subunit p65 NF- $\kappa$ B dan meningkatkan aktivitas transkripsi NF- $\kappa$ B. TNF- $\alpha$  berperan dalam translokasi subunit p65 tersebut dari sitoplasma ke nukleus. XBPI bekerja dengan menghambat peningkatan ekspresi IKK dan NF- $\kappa$ B yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$ . Penghambatan NF- $\kappa$ B terbukti dapat menurunkan adesi leukosit serta mengurangi kebocoran pada retina diabetik.<sup>8,18</sup> Studi yang dilakukan Wang dkk. juga menunjukkan bahwa paparan TNF- $\alpha$  terhadap HREC meningkatkan ekspresi NOS. *Nitric Oxide Synthase* (NOS) adalah faktor proinflamasi yang mampu menginduksi ekspresi ICAM-1 di HREC. Penghambatan inflamasi dilakukan oleh XBPI dengan menghambat ekspresi NOS.<sup>6</sup>

Melalui mekanisme di atas, dapat disimpulkan bahwa aktivasi XBPI mampu menghambat jalur inflamasi yang diinduksi TNF- $\alpha$ , yaitu NF- $\kappa$ B dan NOS, serta menghambat leukostasis dengan menurunkan ekspresi molekul adesi. Hasil ini dikaji lebih jauh dengan menghambat ekspresi XBPI menggunakan *quinoxaline*, inhibitor XBPI, peristiwa sebaliknya terjadi dimana TNF- $\alpha$  serta NF- $\kappa$ B serta adesi leukosit meningkat.<sup>6,15</sup> Oleh karena itu, XBPI memiliki fungsi yang sangat signifikan dalam mencegah reaksi inflamasi. XBPI akan sangat bermanfaat untuk digunakan sebagai strategi pencegahan DR pada penderita DMT2.



Gambar 2. XBPI sebagai Agen Anti Inflamasi

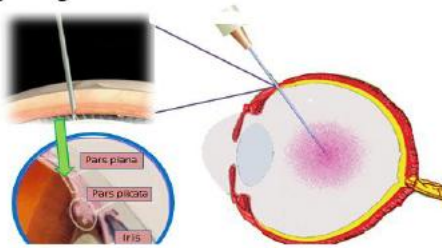
### Mekanisme Konstruksi dan Administrasi X-Box Binding Protein 1 (XBPI)

Gen XBPI dapat diisolasi dari berbagai sel yang sudah dikondisikan stres retikulum endoplasma. Dari isolasi ini didapatkan gen XBPI dalam bentuk XBPI(u) yang selanjutnya diubah menjadi XBPI(s) agar dapat ditranskripsi di nukleus. Pemberian IRE1- $\alpha$  rekombinan ditambahkan bertujuan untuk memotong bagian intron XBPI(u) sehingga menjadi XBPI(s). Purifikasi dan suspensi dalam air kemudian dilakukan untuk mendapat XBPI(s) murni.<sup>17,18</sup>

Proses pembentukan rekombinan adenovirus XBPI(s) diproduksi dengan mengadopsi teknik pembuatan insulin dengan teknik rekayasa genetika pada bakteri. cDNA dari XBPI(s) diinsersi ke dalam adenovirus vektor. Sebelum dijadikan vektor, genom adenovirus diubah dengan menghilangkan DNA virus tersebut. Selanjutnya cDNA XBPI yang terbentuk diinsersi ke dalam area genom virus tersebut sehingga terbentuk rekombinan adenovirus yang mengekspresi XBPI. Rekombinan yang terbentuk akan mampu mereplikasi diri menghasilkan jutaan kopi yang membawa XBPI di dalamnya.<sup>18</sup>

Jalur administrasi adenovirus yang mampu mengekspresi *ocular drug* menuju pembuluh darah retina yang telah terbukti secara laboratorik dapat digunakan sebagai penghantar obat adalah administrasi intravitreal dan periokular. Pada teknik injeksi periokular, koroid dan *blood retinal barrier* (BRB) menjadi halangan yang harus dilalui obat untuk menuju daerah posterior mata. Halangan ini menyebabkan durasi keberadaan obat pendek. Oleh karena itu sebagian besar pengiriman obat yang menuju ke area posterior mata dilakukan dengan teknik injeksi intravitreal.<sup>20</sup>

Hingga saat ini, penelitian tentang jalur pentransferan yang paling efektif bagi XBPI ke dalam pembuluh darah retina dengan vektor adenovirus sebagai pencegahan diabetik retinopati masih terbatas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhang, dkk jalur administrasi XBPI ke pembuluh darah retina dilakukan melalui injeksi intravitreal.<sup>6</sup> Kemungkinan munculnya komplikasi setelah pelaksanaan injeksi intravitreal biasanya terjadi kurang dari 1% sehingga jalur injeksi intravitreal tergolong aman.<sup>21</sup>

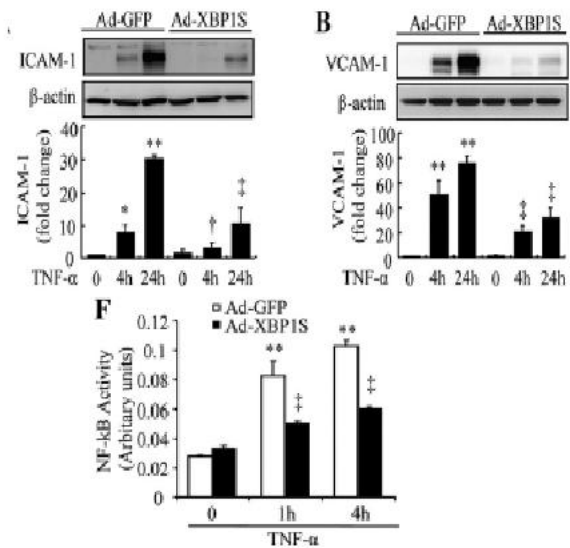


Gambar 3. Teknik Injeksi Intravitreal

Penelitian yang dilakukan Wang dkk, didukung dengan penelitian Zhang dkk. Dalam penelitiannya, administrasi melalui injeksi intravitreal merupakan cara paling efektif mengirim XBPI(s) ke pembuluh darah retina dalam menghambat neovaskuler pembuluh retina.<sup>22</sup> Dengan diberikannya XBPI dapat menjadi strategi profilaksis terhadap diabetik retinopati pada penderita DM.

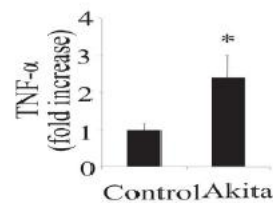
#### Analisis Manfaat Penggunaan X-Box Binding Protein 1 (XBPI)

Pemberian XBPI pada penderita diabetes melitus telah terbukti mampu mengurangi inflamasi di retina.<sup>23</sup> Penelitian Jingming dkk tahun 2010 menunjukkan terjadi penurunan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 pada tikus yang telah dikondisikan mengalami stres retikulum endolasma dengan tunicamycin selama satu hari pemberian XBPI. Selain itu pemberian XBPI juga dapat menurunkan aktivasi NF- $\kappa$ B, salah satu proinflamasi pada diabetes retinopati, yang diinduksi oleh TNF- $\alpha$ .<sup>6</sup>



Gambar 4. Analisis dengan Western Bolt Menunjukkan Penurunan Ekspresi ICAM-1, VCAM-1, serta aktivasi NF- $\kappa$ B ( $0 < 0,001$ )<sup>6</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Jingming dkk pada tahun 2009 menunjukkan terjadi peningkatan level TNF- $\alpha$  sebesar 2,4 kali lipat pada retina tikus Akita setelah 12 minggu berada pada kondisi hiperglikemi ( $p < 0,005$ ). Hal ini menunjukkan peningkatan sitokin inflamasi TNF- $\alpha$  berperan penting dalam inflamasi retina yang mengarah pada diabetes retinopati. Dimana peningkatan TNF- $\alpha$  ini dapat menyebabkan kerusakan BRB dan kebocoran vaskular retina yang merupakan fase awal diabetes retinopati.<sup>9</sup>



Gambar 5 Analisis dengan Western Bolt Menunjukkan Peningkatan TNF- $\alpha$  pada Tikus Akita<sup>9</sup>

Studi biomolekuler yang dilakukan oleh Ozcan menyatakan aktivasi XBPI oleh IRE1 menginduksi ekspresi kaperon retikulum endolasma yang dapat mengurangi Stres retikulum endolasma dan mempertahankan kelangsungan hidup sel.<sup>26</sup> Penurunan regulasi XBPI

menginduksi peningkatan ekspresi molekul adhesi pada endotel retina. Hal ini menandakan XBP1 berperan penting dalam mempertahankan keadaan inflamasi rendah.<sup>6,26</sup>

#### SIMPULAN

Mekanisme kerja XBP1 adalah mengatasi stres RE dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD serta agen antiinflamasi. Mekanisme konstruksi XBP1 dengan isolasi XBP1(u) dan dilanjutkan dengan mengubah menjadi XBP1(s). cDNA XBP1(s) ditranslokasi ke vektor adenovirus. Administrasi dilakukan dengan teknik injeksi intravitreal. Pemberian XBP1 mampu mengurangi ekspresi molekul adhesi ICAM-1, VCAM-1, dan NF- $\kappa$ B, setelah satu hari diberikan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- De La Cruz, J. P., Gonza 1ez-Correa, J. A., Guerrero, A., de la Cuesta, F. S. *Pharmacological Approach to Diabetic Retinopathy*. *Diabetes-Metab Res Rev*. 2004;20(2):91-113.
- Kowluru, Renu A., Chan, Pooi-See. 2007. *Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*. 2007: 43603.
- T. Oshitari, N. Hata, S. Yamamoto. *Endoplasmic Reticulum Stress and Diabetic Retinopathy*. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(1):115-22.
- Joussen, AM., Poulaki, V., Le, ML., Koizumi, K., Esser, C., Janicki, H., et al. *A Central Role for Inflammation in The Pathogenesis of Diabetic Retinopathy*. *FASEB J*. 2004;18:1450-2.
- Poulaki, V. Joussen, AM., Mitsiades, N., Mitsiades, C S. Iliaki, E F., Adamis, AP. *Insulin-Like Growth Factor-I Plays a Pathogenetic Role in Diabetic Retinopathy*. *Am J Pathol*. 2002;165(2):457-69.
- Zhang, S. X. Li, J., Wang, J.J. *Preconditioning with Endoplasmic Reticulum Stress Mitigates Retinal Endothelial Inflammation via Activation of X-box Binding Protein 1*. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2011;286(6):4912-21
- Zhang, S. X. Li, J., Wang, J.J., Yu, Q., Wang, M. *Endoplasmic Reticulum Stress is implicated in Retinal Inflammation and Diabetic Retinopathy*. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2009;284(9): 1521-7.
- Leea, Ann-Hwee, Heidtmana, Keely, Hotamisligilc, Gökhan S., Glimcher, Laurie H. *Dual and Opposing Roles of The Unfolded Protein Response Regulated by IRE1a And XBP1 in Proinsulin Processing and Insulin Secretion*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(21):8885-90
- Madsen-Bouterse, S.A., Kowluru, R.A., *Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy: Pathophysiological Mechanisms and Treatment Perspectives*. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008;9(4):315-27.
- Kolattukudy, PE., Niu, J. *Inflammation, Endoplasmic Reticulum Stress, Autophagy, and the Monocyte Chemoattractant Protein-1/CCR2 Pathway*. 2012;110:174-89
- Marciniak, Stefan J., Ron, David. *Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Disease*. *Physiol Rev*. 2006;86: 1133-49
- Hu, Ping, Han, Zhang, et al. *Autocrine Tumor Necrosis Factor Alpha Links Endoplasmic Reticulum Stress to the Membrane Death Receptor Pathway through IRE1- $\alpha$  Mediated NF- $\kappa$ B Activation and Down-Regulation of TRAF2 Expression*. *Molecular and Cellular Biology*. 2006;26(8): 3071-84
- Hu, Wei-Kun, Liu, Rong, Pei Han, Li, Bin. 2012. *Endoplasmic Reticulum Stress-Related Factors Protect against Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*.
- Patel, Nishal. *Targeting Leukostasis for the Treatment of Early Diabetic Retinopathy*. *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets*. 2009;9:222-9
- Kazuhiro Kimura et al. *Delayed Disruption of Barrier Function in Cultured Human Corneal Epithelial Cells Induced by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in a Manner Dependent*

- on *NF- $\kappa$ B*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(2):565-72
16. Bayat, H., Xu, S., Pimentel, D., Cohen, R. A., and Jiang, B. *Activation of Thromboxane Receptor Upregulates Interleukin (IL)-1 $\beta$ -Induced VCAM-1 Expression Through JNK Signaling*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:127-34
  17. Shinya, S., Kadokura, H., Imagawa, Y., Inoue, M., Yanagitani, K., Kohno, K. *Reconstitution and Characterization of The Unconventional Splicing of XBP1 $\alpha$  mRNA in Vitro*. *Nucleic Acids Research*. 2012;1-10
  18. Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., Glimcher, L.H. *XBP-1 Regulates a Subset of Endoplasmic the Unfolded Protein Response Reticulum Resident Chaperone Genes*. *Mol. Cell Biol*. 2003;23(21):7448
  19. Gehlbach, P., Demetriades, AM., Yamamoto, S., Deering, T., Duh, EJ., Yang, HS., et al *Periocular Injection of an Adenoviral Vector Encoding Pigment Epithelium-Derived Factor Inhibits Choroidal Neovascularization*. *Gene Ther*. 2003;10(8):637-46.
  20. Busquets, Miguel. *Intravitreal Injections: Technique and Infection Prophylaxis*. *Medical Retina*. 2007;19-20.
  21. Li, J., Wang, J.J., Yu, Q., Zhang, S.X. *XBP1 Suppresses Pathological Retinal Neovascularization via Inhibition of Integrin  $\beta$ 3 and VEGF Pathways*. University of Oklahoma HSC, Oklahoma, OK.
  22. Zenga, L., Zampetakia, A., Margaritia, A., Pepea, AE., Alama, S., Martina, D., Xiaoa, Wangb, W. *Sustained Activation of XBP1 Splicing Leads to Endothelial Apoptosis and Atherosclerosis Development in Response to Disturbed Flow*. *PNAS*. 2009;106(20):8326-8331
  23. Kern, Timothy S. 2007. *Contributions of Inflammatory Processes to the Development of the Early Stages of Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*
  24. Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, AH., Iwakoshi, NN., Ozdelen, E., Tuncman, G., Görgün, C., Glimcher, LH., Hotamisligil, GS. *Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin action, and type 2 diabetes*. *Science*. 306(5695):457-61.