

Proton pompası kullanan hastalarda serum homosistein seviyesi artmış mıdır?

Are serum homocysteine levels increased in patients using proton pump inhibitors?

Ezgi Ersoy YEŞİL¹, Ebubekir ŞENATEŞ², Atakan YEŞİL², Can SEVİNÇ³, Fatma TUFAN³, Ali ÖZDEMİR¹

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ¹İç Hastalıkları Kliniği, ²Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ³Aile Hekimliği Kliniği, İstanbul

Giriş ve Amaç: Hücre bölünmesi ve çoğalması için gerekli olan DNA sentezi homosisteinin metionine dönüşmesiyle sağlanmaktadır. Vitamin B₁₂ bu reaksiyonda rol alan metionin sentetazın kofaktörüdür. Vitamin B₁₂ eksikliğinde homosistein birikimi olur. Hiperhomosisteinemi ise arterioskleroz ve serebral tromboemboli ile ilişkili bulunmuştur. Proton pompa inhibitörleri yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçlar parietal hücrelerdeki proton pompasında bulunan H⁺/K⁺-ATPazı inhibe ederek HCl'yi inhibe ederler. Vitamin B₁₂'nin gıdalardan ayrılmasında HCl gerektiğinden, proton pompa inhibitörü kullanımı vitamin B₁₂ eksikliğine bu da hiperhomosisteinemiye yol açabilir. Çalışmamızda proton pompa inhibitörü kullanımının vitamin B₁₂ ve homosistein düzeyine etkisini araştırdık. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Mart ve Temmuz 2009 arasında polikliniğimize başvuran ve çeşitli nedenlerle en az üç aydır proton pompa inhibitörü kullanan 44 (hasta grubu) ve daha önce hiç proton pompa inhibitörü kullanmamış 38 hasta (kontrol grubu) alındı. Hasta ve kontrol grubunun yaşı, serum homosistein düzeyi, vitamin B₁₂, folik asit ve MCV değerleri ve hastaların proton pompa inhibitörü kullanım süresi kaydedildi. Ayrıca proton pompa inhibitörü kullanan hastalar kendi arasında, 2 yıldan az ve fazla proton pompa inhibitörü kullananlar olarak açlık serum homosistein düzeyi, vitamin B₁₂ vitamini, folik asit ve MCV değerleri açısından karşılaştırıldı. **Bulgular:** Hasta grubunda proton pompa inhibitörü kullanım süresi ortalama 19.5 ay idi. Hasta ve kontroller arasında yaş (hasta grubu 39±14, kontrol grubu 41±5 p=0,7) ve cinsiyet (hasta grubunda 19 erkek, 25 kadın; kontrol grubunda 13 erkek, 25 kadın p=0,4) açısından anlamlı bir fark yoktu. Hasta ve kontroller homosistein (hasta 9.98±4.79 kontrol 9.40±0.527 p=0.5), B₁₂ vitamini (hasta 328±305 kontrol 264±105 p=0.2), folik asit (hasta grubunda 9.20±3.20 kontrol grubunda 8.91±2.94 p=0.7) ve MCV (hasta 83±11 kontrol 86±8 p=0.1) yönünden karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Hasta grubu kendi arasında 2 yıldan az ve fazla proton pompa inhibitörü kullananlar şeklinde karşılaştırıldığında homosistein düzeyi, vitamin B₁₂, folik asit ve MCV değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. **Sonuç:** Çalışmamıza göre, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının vitamin B₁₂ ve buna bağlı olarak homosistein düzeyi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı ve bu sebeple bu hastaların hiperhomosisteineminin getirdiği kardiyovasküler risklere genel toplumdan daha fazla sahip olmadığı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Homosistein, vitamin B₁₂, proton pompa inhibitörleri

Background and Aim: DNA synthesis, which is required for cell division and proliferation, is provided by transformation of homocysteine to methionine. Vitamin B₁₂ is the cofactor of methionine synthesis that plays a role in this reaction. vitamin B₁₂ deficiency causes the accumulation of homocysteine. Hyperhomocysteinemia has been associated with arteriosclerosis and cerebral embolism. Proton pump inhibitors are widely used drugs that inhibit H⁺/K⁺-ATPase, which is found in parietal cells. Because HCl is required for separation of vitamin B₁₂ from food, the ingestion of proton pump inhibitors can cause vitamin B₁₂ deficiency, which can lead to hyperhomocysteinemia. In our study, we investigated the effect of the use of proton pump inhibitors on vitamin B₁₂ and serum homocysteine levels. **Material and Methods:** In this study, 44 patients who had been using proton pump inhibitors for at least 3 months because of various indications and 38 patients (control group) who had never used proton pump inhibitors who admitted to our outpatient clinic between March and July 2009 were included. The ages of the patients and the control group, serum levels of homocysteine, vitamin B₁₂ and folic acid, mean corpuscular volume (MCV) values, and duration of proton pump inhibitors use were recorded. In addition, among the patients on proton pump inhibitors, the fasting serum levels of homocysteine, vitamin B₁₂ and folic acid and MCV values were compared between patients using proton pump inhibitors for less than 2 years or more than 2 years. **Results:** The average duration of proton pump inhibitors use was 19.5 months in the patient group. There was no significant difference between patients and controls in mean age (in patient group: 39±14, in control group: 41±5; p=0.7) and gender (patient group: 19 men, 25 women, control group: 13 men, 25 women; p=0.4). No significant difference was detected between patient and control groups when comparing in terms of homocysteine (patients: 9.98±4.79, controls: 9.40±0.527; p=0.5), VB12 (patients: 328±305, controls: 264±105; p=0.2), folic acid (patients: 9.20±3.20, controls: 8.91±2.94; p=0.7), and MCV (patients: 83±11, controls: 86±8; p=0.1). There were no differences between homocysteine, vitamin B₁₂, folic acid and MCV levels when the patients were compared among themselves regarding the use of proton pump inhibitors for more or less than 2 years. **Conclusion:** According to our study, long-term use of proton pump inhibitors showed no significant effect on the levels of vitamin B₁₂ and consequently on the level of homocysteine. For this reason, we can say that these patients do not have greater cardiovascular risks caused by hyperhomocysteinemia with respect to the general population.

Keywords: Homocysteine, vitamin B₁₂, proton pump inhibitors

İletişim: Ebubekir ŞENATEŞ

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Gastroenteroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Fax: +90 216 414 45 02-1625 • E-mail: ebubekirsenates@yahoo.com

Geliş Tarihi: 08.11.2010 • **Kabul Tarihi:** 15.12.2010

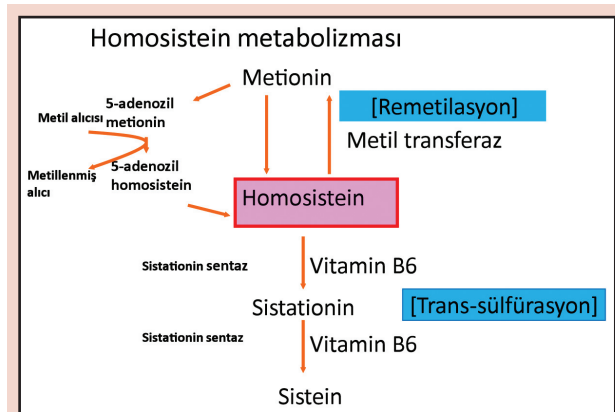
*Bu çalışma 27. Ulusal Gastroenteroloji Kongresi'nde (24-28 Kasım 2010) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Homosistein diyet proteini içinde bulunan metiyonin aminoasitinin derivasyonu ile oluşan ve sülfür içeren bir aminoasittir. Plazmada, total homosisteinin %70'i proteine bağlıdır. Homosistein remetilasyon ve transsülfürasyon yollarından birisiyle metabolize olur (Şekil 1). Homosistein, metionin ve sisteinin bir prekürsörüdür. Folat ve vitamin B₁₂ (VB₁₂); homosisteinin dönüşümü için gerekliyken, vitamin B₆ (B₆) (piridoksin) ise homosisteinin sisteine dönüşümü için gereklidir. Folat, VB₁₂ ve B₆ yetersizlikleri homosistein seviyelerinin artmasına neden olur. Yani VB₁₂, folik asit ve vitamin B₆ homosisteinin metabolik yollarında kofaktördürler. Bunlardaki eksiklikler sonucu homosistein seviyeleri artmaktadır.

Yapılan çalışmalarda artmış plazma homosistein seviyesinin kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (1-3). Ayrıca hiperhomosisteinemi serebrovasküler hastalık, periferik vasküler hastalık ve koroner kalp hastalığı ile ilişkili bulunmuş ve hiperhomosisteinemi olan hastalarda koroner kalp hastalığı gelişme riskinin normal popülasyona göre fazla olduğu bildirilmiştir (4). Yapılan bir çalışmada homosistein artışının venöz tromboembolizm için de bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiş ve homosistein konsantrasyonu arttıkça, bu riskin de arttığı gösterilmiştir (5).

VB₁₂ et ve süt ürünleri ile vücudumuza girer, mide asidik ortamı ve pepsin hayvansal proteinlerden kobalamini ayırır ve kobalaminin tükürükteki R proteinine bağlanır. Duodenumda pankreas enzimleri ve alkali pH tarafından R proteini kobalaminden ayrılır. B₁₂ vitamini daha sonra intrinsik faktöre (IF)-kobalamin kompleksini oluşturmak üzere bağlanır. IF midenin paryetal hücrelerinden salınır. IF salınımı histamin ve gastrin ile uyarılır. Safraya geçen endojen B₁₂ vitamini de IF'e bağlanır. IF-kobalamin kompleksi terminal ileumda membran reseptörlerine bağlanır



Şekil 1. Homosisteinin metabolizması

ve endositler aracılığıyla emilir. Hiperhomosisteinemi, arterioskleroz ve serebral tromboemboli ile ilişkili bulunmuştur (6, 7). Proton pompa inhibitörleri (PPI) gastroözofageal reflü, peptik ülser ve non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların kronik kullanımı gibi nedenlerle yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçlar paryetal hücrelerdeki proton pompasında bulunan H⁺/K⁺ -ATPazı inhibe ederek mide asidini inhibe ederler (8). B₁₂ vitaminin alınan gıdalardan ayrılmasında mide asidinin gerekli olmasından dolayı, PPI kullanımı B₁₂ eksikliğine böylece hiperhomosisteinemiye yol açabilir (9). Günümüzde halen PPI kullanımı ile B₁₂ vitamini eksikliği arasındaki ilişki kesinlik kazanmamıştır. Kısa dönem çalışmalarda PPI'nin proteine bağlı B₁₂ vitamin emilimine direkt etkisi olduğu gösterilmiştir (10). Ancak uzun dönem PPI kullanımı ile B₁₂ eksikliği arasında ilişki net değildir.

Bu çalışmadaki amacımız çeşitli nedenlerle en az 3 ay PPI kullanan hastalardaki serum homosistein düzeyi ile yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş PPI kullanmayan hastalardaki serum homosistein düzeyini karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza 2 Mart - 31 Temmuz 2009 tarihleri arasında Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Polikliniğine başvuran ve PPI kullanan 44 (25 kadın, 15 erkek) hasta çalışma grubu ve polikliniğe başka nedenlerle başvuran ve PPI kullanmayan 39 (25 kadın, 13 erkek) hasta ise kontrol grubu olarak alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubunun yaşı, kullandığı PPI ve kullanım etiolojisi, ek hastalık ve kullandığı ek ilaçlar, serum homosistein, B₁₂ vitamini ve folik asit düzeyleri, MCV değeri ve hastaların PPI kullanım süresi kaydedildi. Ayrıca PPI kullanan hastalar kendi arasında 2 yıldan az ve 2 yıldan fazla PPI kullananlar olarak açlık serum homosistein, B₁₂ vitamini ve folik asit düzeyleri ve MCV değerleri açısından karşılaştırıldı.

Açlık serum homosistein düzeyi, Fluorescence Polarizasyon Immunoassay (FPIA) yöntemi ile ölçüldü. Bu yöntemde örnekteki homosisteinin disülfid ve protein bağları ditiothreitol (DDT) ile indirgenerek serbest homosistein ortaya çıkar. Serbest homosistein S-adenosyl-L-homosistein hidrolaz ile adenzin varlığında S-adenosyl-L-homosisteine dönüşür. Testler serumda çalışıldı ve sonuçlar µmol/L olarak değerlendirildi. VB₁₂ ve folik asit düzeyleri kimiluminesans yöntemi ile (Centaur Bayer) ile ölçüldü.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 15.0 programı kullanıldı (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA). Devamlı değişkenler için Student t testi veya Mann-Whitney U testi kullanıldı ve sonuçlar ortalama ± standart sapma

(ort±SS) şeklinde kaydedildi. Kategorik değişkenler için ise Pearson ki-kare veya Fisher exact test kullanıldı. Tüm testler iki taraflı olup $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 83 hasta alındı. Çalışma grubunda 44 hasta (25 kadın, 15 erkek), kontrol grubunda ise 39 (25 kadın, 13 erkek) vardı. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışma grubundaki hastaların 22 tanesi lansoprazol, 17 tanesi pantoprazol ve kalan 5 hasta ise omeprazol kullanmaktaydı. Çalışma grubundaki 26 hasta dispepsi, 11 hasta reflü, 5 hasta peptik ülser nedeniyle ve 3 hasta ise subtotal gastrektomi sonrası PPI kullanmaktaydı.

Hasta ve kontrol grubunun açlık serum homosistein, B₁₂ vitamini ve folik asit düzeyleri, CRP ve MCV değerleri açısından karşılaştırılması Tablo 2'de gösterilmiştir.

PPI tedavisi gören 44 hastanın 10'unda (%22.73), kontrol grubundaki 38 hastanın ise 6'sında (%15.79) homosistein düzeyleri referans aralığının üzerinde olup fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. ($p=0.429$).

TARTIŞMA

Homosistein, metionin metabolizması esnasında oluşan, yapısında sülfür bulunduran bir aminoasittir. Yüksek homosistein konsantrasyonları altta yatan sebepten bağımsız olarak vasküler yapıya ve fonksiyonuna birçok mekanizma ile zarar vermektedir. Bu mekanizmalardan bazıları endotel disfonksiyonu, trombosit aktivasyonu, trombüs formasyonu, sitotoksik reaktif oksijen yüksek radikaller oluşumu, lipid peroksidasyonu, LDL kolesterolün oksidasyonu ve vasküler düz kas proliferasyonudur (6,7).

Tam olarak mekanizması bilinmemekle beraber homosistein birçok düzeyde endotel hasarına sebep olur. Homosistein endotelin normal antitrombotik fenotipini, faktör XII'nin ve faktör V'in aktivitesini arttırarak ve protein C'nin aktivasyonunu azaltarak değiştirir (11). Homosistein ayrıca trombomodülün ekspresyonunu, doku faktörü

Tablo 2. PPI kullanan ve kullanmayan hastaların homosistein ve diğer laboratuvar değerleri açısından karşılaştırılması

| Özellik | PPI kullanan (n=44) | PPI kullanmayan (n=38) | p |
|---|---------------------|------------------------|-------|
| Serum açlık homosistein seviyesi (µmol/L) | 9.98 ± 4.79 | 9.40 ± 0.527 | 0.516 |
| B ₁₂ vitamini (pg/dl) | 328.43 ± 305.8 | 264.16 ± 104.59 | 0.221 |
| Folik asid (ng/ml) | 9.20 ± 3.20 | 8.91 ± 2.94 | 0.776 |
| MCV (fL) | 82.53 ± 10.81 | 85.82 ± 7.52 | 0.121 |

ekspresyonunu ve endotelden sülfat ekspresyonunu artırır (12). Tüm bu etkiler sonucunda trombin oluşumu kolaylaşır ve protrombotik bir ortam oluşur.

Endotele bağlı nitrik oksit de homosistein tarafından olumsuz yönde etkilenir. Normal endotel hücreleri oksijen varlığında nitrik oksit üreterek homosisteini, S-nitroso-homosisteine çevirerek non-toksik hale getirir (13). Homosisteinin sülfidril gruplarının nitroillenmesiyle sülfidriyle bağlı hidrojen peroksit üretimi engelenir. S-nitroso-homosistein ayrıca güçlü bir trombosit inhibitörü ve vazodilatatördür. Bu koruyucu etki hiperhomosisteineminin endoteli hasara uğratmasıyla ortadan kaybolur. Nitrik oksidin azalmasıyla endotel savunmasız kalır (13). Ayrıca homosistein nitrik oksidin sentezini de bozarak biyoyararlanımı azaltır. Oluşan lipid peroksidasyonu, nitrik oksit sentez yapımı azalır ve nitrik oksit yıkılır. Homosistein hücresel glutation sentetaz yapımını inhibe eder, homosistein oksidasyonundan açığa çıkan reaktif oksijen türevleri serbest kalır ve lipid peroksidasyonuna neden olur (14-16).

Homosistein vasküler düz kaslarda transkripsiyon faktörü NF- (kappa) B'yi aktive ederek nitrik oksit üretimini artırır. Harker ve arkadaşları baboon türü maymunlara homosistein infüzyonunun damarlarda ateromatöz değişiklikler oluşturduğunu göstermişlerdir (17). İn vitro homosistein vasküler düz kaslarda messenger RNA'nın siklin D1 ve siklin A ekspresyonunu arttırarak proliferasyonuna neden olur (18). Tsai ve arkadaşları homosisteinin aterosklerotik özelliğinin vasküler düz kaslarda proliferasyon yapmasından kaynaklandığını ileri sürer (19). Welch ve arkadaşları homosisteinin vasküler düz kaslarda transkripsiyon faktörü NF- (kappa) B'yi aktive ederek nitrik oksit üretimini arttırdığını göstermişlerdir (20). NF- (kappa) B'nin reaktif oksijen türevlerinin tetikleme ile arttığı düşünülmektedir (21). NF- (kappa) B vasküler düz kasların proliferasyonu için gerekli bir madde olduğundan homosisteinin mitojenik özelliği bu yolla açıklanabilir.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet yönünden karşılaştırılması

| Özellik | PPI kullanan (n=44) | PPI kullanmayan (n=38) | p |
|------------------------|---------------------|------------------------|-----|
| Yaş | 39±14 | 41±5 | 0.7 |
| Cinsiyet (kadın/erkek) | 25/19 | 25/13 | 0.4 |

B₁₂ vitamininin en önemli temel fonksiyonu, folik asit ile birlikte hücre bölünmesi ve çoğalması için gerekli DNA sentezini desteklemesidir. Bu olay homosistein'in metionin'e dönüştürülmesi ile meydana gelir. Bu reaksiyona metionin sentetaz reaksiyonu adı verilir. B₁₂ vitamini bu dönüşümde kofaktör olarak rol oynar. B₁₂ vitamini eksikliğinde homosistein birikimi olur. PPI paryetal hücrelerdeki proton pompasında bulunan H⁺/K⁺ ATPazı inhibe ederek mide asidini inhibe ederler (8). B₁₂ vitaminin alınan gıdalardan ayrılmasında mide asidinin gerekli olmasından dolayı, PPI kullanımının B₁₂ eksikliğine, böylece hiperhomosisteinemiye yol açabileceği belirtilmiştir (9). Bazı kısa zamanlı çalışmalar PPI'in proteine bağlı B₁₂ vitaminin emilimine olumsuz etkisi olduğunu göstermiştir (22-24). Ancak uzun dönem PPI kullanımı ve B₁₂ vitamin düzeyi arasındaki ilişki henüz kesinlik kazanmamıştır. PPI'in uzun dönem kullanımında B₁₂ vitamin düzeyinin düştüğünü bildiren yayınlar mevcuttur. Ayrıca kronik olarak PPI kullanan Zollinger Ellison tanılı aklorhidrik hastalarda uzun süreli omeprazol kullanımının B₁₂ vitamini düzeyinde anlamlı düşüş yaptığı gösterilmiştir (25, 26). Yine çeşitli mide rahatsızlıkları için 3 yıl boyunca omeprazol kullanan hastalarda yapılan bir çalışmada B₁₂ vitamin düzeylerinin sabit kaldığı gösterilmiştir (27). Bu çalışmaların sonuçları

arasındaki çeşitlilik alınan hasta sayısına, farklı popülasyonlar ve farklı izlem sürelerine bağlanabilir. Çalışmamızda çeşitli sebeplerle en az 3 aydır PPI kullanan hastalarda B₁₂ vitamini ve bununla ilişkili olarak homosistein, B₁₂ vitamini, folik asit ve MCV düzeyindeki değişiklikleri araştırdık. Biz de, yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak bu parametreler açısından PPI kullanan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptamadık. Kısa dönem PPI kullanımının B₁₂ vitamini ve homosistein üzerindeki etkisi ile ilgili yapılmış bazı çalışmaların aksine, bizim çalışmamızda bu ilaçların 2 yıldan az ve fazla kullanımı arasında da bu parametrelerde anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Çalışmamızın önemli bir eksikliği hasta sayısının fazla olmamasıdır. Bu nedenle bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçların daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerekebilir.

Sonuç olarak uzun süreli PPI kullanımının B₁₂ vitamini ve buna bağlı olarak homosistein düzeyi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı ve bu sebeple bu hastaların hiperhomosisteineminin getirdiği kardiyovasküler risklere genel toplumdan daha fazla sahip olmadığını söyleyebiliriz. Bu çalışmanın bulguları ışığında PPI kullanan hastalarda rutin olarak B₁₂ vitamin ve homosistein ölçümünün gerekli olmadığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Kuller LH, Evans RW. Homocysteine, vitamins, and cardiovascular disease *Circulation* 1998; 98: 196-9.
2. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407-13.
3. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* 2002; 62: 605-16.
4. Fellenius E, Berlingdh T, Sachs G, et al. Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by blocking (H⁺ K⁺)ATPase. *Nature* 1981; 290: 159-61.
5. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-55.
6. Den Heijer M, Koster T, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 759-62.
7. Harker LA, Ross R, Slichter SI, Scott CR. Homocysteine-induced arteriosclerosis: The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J. Clin Invest* 1976; 58: 731-41.
8. Parthasarathy S. Oxidation of low-density lipoprotein by thiol compounds leads to its recognition by the acetyl LDL receptor *Biochim Biophys Acta* 1987; 917: 337-40.
9. Fellenius E, Berlingdh T, Sachs G, et al. Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by blocking (H⁺ K⁺) ATPase. *Nature* 1981; 290: 159-61.
10. Saltzman JR, Kemp JA, Golner BB, et al. Effect of hypochloridia due to omeprazole treatment or atrophic gastritis on protein-bound vitamin B12 absorption. *J Am Coll Nutr* 1994; 13: 584-91.
11. Rodgers GM, Conn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 1990; 75: 895-901.
12. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1381-6.
13. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91: 308-18.
14. Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest* 1992; 89: 10-8.
15. Bloom HJ, Kleinvelde HA, Boers GH, et al. Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 149-54.
16. Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, et al. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-7.
17. Harker LA, Harlan JM, Ross R. Effect of sulfipyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. *Circ Res* 1983; 53: 731-9

18. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6369-73.
19. Tsai JC, Wang H, Perrella MA, et al. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1996; 97: 146-53.
20. Welch GN, Upchurch GR Jr, Farivar RS, et al. Homocysteine-induced nitric oxide production in vascular smooth muscle cells by NF- κ B dependent transcriptional activation of Nos 2. *Proc Assoc Am Physicians*. 1998; 110: 22-31.
21. Bellas RE, Lee JS, Sonenshein GE. Expression of a constitutive NF- κ B-like activity is essential for proliferation of cultured bovine vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1995; 96: 2521-7.
22. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med* 1994; 120: 211-5.
23. Pounder R, Smith J. Drug induced changes in plasma gastrin concentrations. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19: 141-53.
24. Lamberts R, Creutzfeldt W, Strüber HG, et al. Long term omeprazole therapy in peptic ulcer disease: gastrin, endocrine cell growth and gastritis. *Gastroenterology* 1993; 104: 1356-70.
25. Chourasia D, Misra A, Pandey R, Ghoshal UC. Gastric atrophy and intestinal metaplasia in a patient on long-term proton pump inhibitor therapy. *Trop Gastroenterol* 2008; 29: 172-4.
26. Howden CW. Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30: 29-33.
27. Koop H, Bachem MG. Serum iron, ferritin and vitamin B12 during prolonged omeprazole therapy. *J Clin Gastroenterol* 1992; 14: 288-92.