

Araştırma Makalesi

Dopamin Reseptör 2 (DRD2) Gen Polimorfizmlerinin Obezite Hastalığına Yakalanma Riski ile İlişkisi

The Relation of Dopamine Receptor-2 (DRD2) Gene Polymorphisms with Obesity Disease

İsa TAYŞUN¹, Muradiye NACAĞ¹, Necla BENLİER², Mustafa ARAZ³,
Mehtap ÖZKUR¹, Ahmet Şükrü AYNACIOĞLU¹

¹Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

²Sanko Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

³Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Gaziantep

Özet

Amaç: Obezite genel tıbbi hastalıkların yanı sıra sosyal ve psikolojik sorunlar için de oldukça önemli risk etkenidir. Obezitenin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte sosyal, kültürel, psikolojik, metabolik ve genetik faktörlerin önemli roller oynadığına dair kuvvetli deliller vardır. Dopaminergic sistemin, beyindeki ödüllendirme ve pekiştirici mekanizmalar üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, obeziteye yakınlık açısından önemli bir genetik aday olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada dopamin D2 reseptör geninin *Taq1 A* ve *Taq1 B* polimorfizmleri ile obezite hastalığına yakalanma riski arasında olası ilişki araştırıldı.

Yöntem: 140 hasta ve 120 sağlıklı gönüllünün venöz kanlarından DNA izole edildi. Polimorfizmlerin tespit edilmesinde polimeraz zincir reaksiyonu - restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi yöntemi kullanıldı.

Bulgular: DRD2 *Taq1 A* polimorfizmi *A1*-allel sıklığı ($p<0.05$) obez hastalarda anlamlı olarak daha yüksekti. Ancak, obez hastalar ve kontrol grubu ($p>0.05$) arasındaki DRD2 *Taq1 B* polimorfizmi açısından anlamlı bir fark yoktu.

Sonuç: Sonuçlarımız DRD2 *Taq1 A* polimorfizminde *A1* alleli varlığının obezite için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: dopamin; dopamin reseptör geni; obezite; polimorfizm

Abstract

Aim: Besides it's well known influence on the general medical diseases, obesity is also considered as a very significant risk factor for the social and psychological problems as well. While the precise mechanism of obesity is unclear, there are strong evidences that the social, cultural, psychological, metabolic and genetic factors play important roles as underlying mechanisms. Considering its rewarding and the reinforcement effects on the brain, dopaminergic system has been pointed out as an important genetic candidate for revealing the tendency in obesity. In this study, we investigate the possible association between the *Taq1 A* and *Taq1 B* polymorphisms of the dopamine D2 receptor gene and the tendency to obesity disease.

Method: DNA samples were purified from venous leukocytes of 140 obese patients and 120 controls subjects. These polymorphisms were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis.

Results: The DRD2 *Taq1 A* polymorphism *A1*-allele frequency was significantly higher in the obese patients ($p<0.05$). However, there was no significant difference in the DRD2 *Taq1 B* polymorphism between obese patients and control subjects ($p>0.05$).

Conclusion: Our results suggest that the presence of *A1* allele of the DRD2 *Taq1 A* polymorphism may be a risk factor for obesity.

Keywords: dopamine; dopamine receptor gene; obesity; polymorphism

**Bu araştırma GAZÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından Yüksek Lisans Tez Çalışması olarak desteklenmiştir (Proje No: TF.09.27).*

**17.01.2011 tarihinde kabul edilen "Dopamin Reseptör 2 (DRD2) Gen Polimorfizmlerinin Obezite Hastalığına Yakalanma Riski ile İlişkisi" başlıklı tezden hazırlanmıştır.*

**2011 yılında Eskişehir'de 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.*

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2014;7(1):24-29

Geliş tarihi : 17.06.2014

Kabul tarihi : 15.10.2014

Yazışma adresi : Prof. Dr. Muradiye NACAĞ, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 27310 Şahinbey, Gaziantep

Tel : 0342 3606060-77784

Faks : 0342 3601617

E-posta : mnacak2000@yahoo.com

Giriş

Obezite, vücutta enerji alınımı ile enerji harcanması arasındaki dengenin bozulması sonucu gelişen metabolik bir hastalıktır. "Vücut Kitle İndeksi" (VKİ, kg/m^2) 35-39.9 arasında olan bireyler obez, ≥ 40.0 olan bireyler ise morbid obez olarak değerlendirilmektedir (1). Türkiye'de obezite prevalansının kadınlarda %30, erkeklerde %13, genelde ise %22.3 olduğu tespit edilmiştir (2). Obezitenin mekanizması tam bilinmemekle birlikte sosyal, kültürel, psikolojik, metabolik ve genetik faktörlerin önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (3). Obezitede genetik etkinin %20-80 arasında olduğu bildirilmektedir (4,5).

Dopamin beyindeki ödül sisteminin asıl nörotransmitterdir. Beslenmenin dorsal striatumdan dopamin salıverilmesi ile ilişkili olduğu ve yemek yemekten alınan zevkin derecesi ile salıverilen dopamin miktarının orantılı olduğu tespit edilmiştir (6). Yapılan çalışmalarda dopamin antagonistlerinin iştahı ve kilo alınımını arttırdığı, dopamin agonistlerinin ise kilo kaybına yol açtığı gösterilmiştir (7). Bundan dolayı dopaminergic sistem, beyindeki ödüllendirme ve pekiştirici mekanizmalar üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, obeziteye yatkınlık açısından önemli bir genetik adaydır. Beş farklı dopamin reseptörü (DRD) vardır: DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 ve DRD5 (8). Beyindeki ödüllendirme mekanizmalarına bunlardan özellikle DRD2'nin aracılık ettiği gösterilmiştir (9). Santral sinir sisteminde bulunan DRD2 reseptör sayısının, obezlerde zayıf kişilere göre daha az olduğu tespit edilmiştir (10,11). Yine obez sıçanların bazal dopamin seviyeleri zayıf sıçanlara göre daha düşük ve D2 reseptör ekspresyonları daha az bulunmuştur (12,13). Buna göre obez kişilerin hipofonksiyone bir ödüllendirme yolağına sahip olduğu, bu durumda da ödül sistemini kompanse etmek için aşırı yeme isteği ortaya çıktığı kabul edilmektedir (14).

DRD2 reseptör geni 11q22-q23 kromozom'da lokalizedir ve bu gende çeşitli polimorfizmler tespit edilmiştir (15). DRD2 genindeki *TaqI* polimorfizmi, bu polimorfizmler arasında en önemli ve en çok üzerinde çalışılanlardan birisidir (16). Bu polimorfizmin vücut ağırlığı, adult başlangıçlı obezite ve diyetle karbonhidrat tercihi gibi obezite ile ilgili parametrelerle ilişkisi olduğu tespit edilmiştir (17).

TaqI A polimorfizmi (rs 1800497), DRD2 geninin 3' flanking bölgesinde bulunurken (16), *TaqI B* polimorfizmi (rs 1079597) ise DRD2 geninin düzenleyici ve yapısal bölgelerine yakın konumda bulunmaktadır (18). *A1* allelinin DRD2 reseptör dansitesindeki azalmayla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Reseptör bağlama yerlerinin sayısı *A2* homozigotlarda en yüksek, *A1* homozigotlarda ise en düşük sayıda bulunmuştur (19). *TaqI A* polimorfizmi, *A1* (varyant) ve *A2* (wild type) allellerinden oluşurken (16), *TaqI B* polimorfizmi ise *B1* (varyant) ve *B2* (wild type) allellerinden oluşmaktadır (18,20).

Çalışmamızın amacı, sağlıklı gönüllülerde ve obezite hastalığı olan erişkin gruplarda DRD2 genindeki *TaqI A* ve *TaqI B* polimorfizmlerin allel ve genotiplerinin belirlenmesi ve bu genlerdeki polimorfizmlerin obezite hastalığının gelişmesindeki olası rollerinin incelenmesidir.

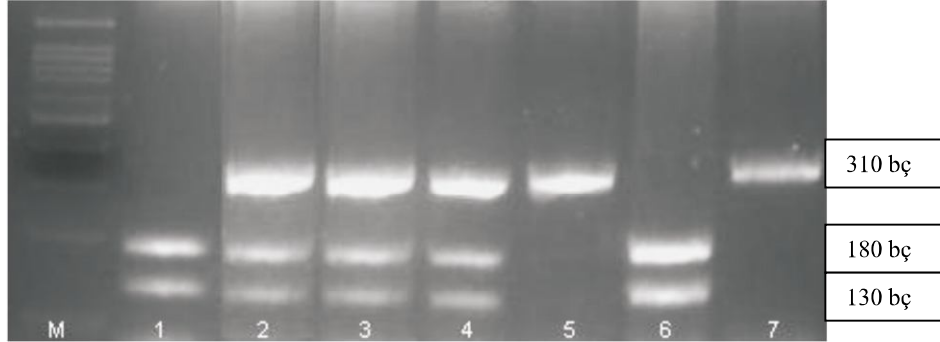
Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya Haziran 2009-Haziran 2010 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniği'nde, VKİ 30-55 arasında olup ekzojen obezite tanısı konan 140 olgu (121 kadın, 19 erkek) alındı. Diabetes mellitus, hipotiroidi ve Cushing sendromu gibi endojen kaynaklı obezler araştırmaya dahil edilmedi. Kontrol grubu olarak da aynı polikliniğe başvuran, aralarında akrabalık ilişkisi olmayan, obezite tanısı olmayan ve DRD2 genindeki polimorfizmlerle ilişkili olabilecek hastalık hikayesi (örn; psikiyatrik rahatsızlık, madde bağımlılığı...) olmayan toplam 120 sağlıklı gönüllü birey (65 kadın, 55 erkek) alındı. Tüm gönüllülerden bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınarak (06-2009/217) ve Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapıldı.

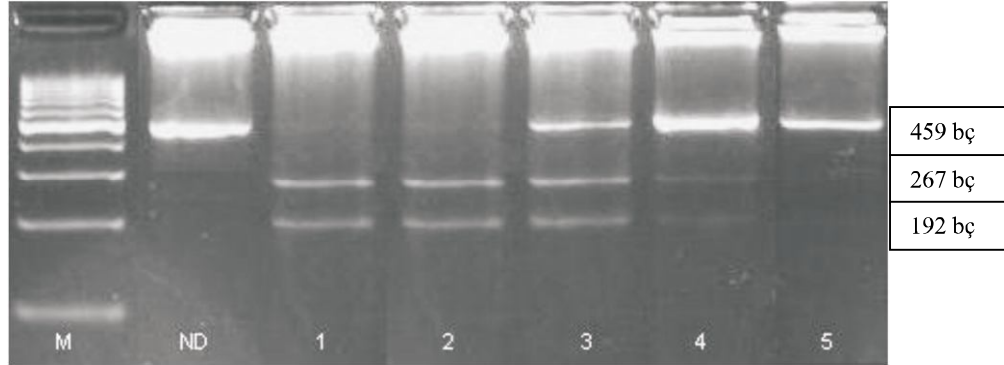
DNA izolasyonu, bireylerden alınan 3 ml venöz kandan yüksek tuz konsantrasyonuyla DNA'nın çöktürülmesi metodu kullanılarak yapıldı (21). DRD2 genindeki *TaqI A* ve *TaqI B* polimorfizmlerini belirlemek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanıldı. 310 bç'lik polimorfik *TaqI A* bölgesi, 5'-CCG TCG ACG GCT GGC CAA GTT GTC TA-3' (forward) ve 5'-CCG TCG ACC CTT CCT GAG TGT CAT CA-3' (reverse) primerleri kullanılarak (22); 459 bç'lik polimorfik *TaqI B* bölgesi ise, 5'-GAT ACC CAC TTC AGG AAG TC-3' (forward) ve 5'-GAT GTG TAG GAA TTA GCC AGG-3' (forward) primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı (23). PCR ürünleri *TaqI* (TaKaRa, Otsu, Shiga, Japan) restriksiyon enzimi ile 65C'de 4 saat inkübe edilerek kesildi ve %4'lük agaroz jelde yürütülerek genotipler jel görüntüleme sistemiyle (Wilber Lourmat, Fransa) belirlendi. *TaqI A* polimorfizmi için yapılan elektroforezde bantların uzunlukları 310, 180 ve 130 bç olarak saptandı. Bu bant uzunluklarına göre yapılan değerlendirmede 310 bç'lik tek bantın görüldüğü bireyler *A1/A1* homozigot normal; 310, 180, 130 bç'lik üç bantın görüldüğü bireyler heterozigot; 180 ve 130 bç'lik iki bantın görüldüğü bireyler ise *A2/A2* homozigot mutant olarak tanımlandı (Şekil 1). *TaqI B* polimorfizmi için yapılan elektroforezde ise bantların uzunlukları 459, 267 ve 192 bç olarak saptandı. Yapılan değerlendirmede 459 bç'lik tek bantın görüldüğü bireyler *B1/B1* homozigot normal; 459, 267 ve 192 bç'lik üç bantın görüldüğü bireyler heterozigot; 267 ve 192 bç'lik iki bantın görüldüğü bireyler ise *B2/B2* homozigot mutant olarak tanımlandı (Şekil 2).

Sağlıklı gönüllü ve obez hasta gruplarından elde edilen allel frekansları ve genotip dağılımının istatistiksel analizinde ki-kare (χ^2), gruplardan biri beşten az ise Fisher's Exact testi kullanıldı. Relatif riski hesaplamak için risk oranı (odds ratio) ve %95 güven aralığı (GA) kullanıldı. "Hardy-Weinberg" dengesi (HWE) de-finetti programı kullanılarak hesaplandı

(<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>). İki grupta cinsiyetlere göre dağılımın istatistiksel analizinde χ^2 testi, yaşların karşılaştırılmasında ise Student t testi kullanıldı. χ^2 analizleri Graphpad Instat version 3.05 programı kullanılarak yapıldı. İki grup arasındaki tüm istatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.



Şekil 1. DRD2 TaqI A polimorfizminin TaqI enzimi ile kesim sonrası agaroz jeldeki görüntüsü M: Marker, 7: Non-digestion (Kesilmemiş PCR ürünü), 1,6: A2/A2 genotipi, 2,3,4: A1/A2 genotipi, 5: A1/A1 genotipi.



Şekil 2. DRD2 TaqI B polimorfizminin TaqI enzimi ile kesim sonrası agaroz jeldeki görüntüsü M: Marker, ND: Non-digestion (Kesilmemiş PCR ürünü), 1,2: B2/B2 genotipi, 3,4: B1/B2 genotipi, 5: B1/B1 genotipi.

Bulgular

Obez ve kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Yaş ortalaması açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunamazken ($p=0.6881$), cinsiyet açısından iki grup arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu tespit edildi ($p < 0.0001$). 140 obez hastanın VKİ ortalaması 43.5 olarak bulundu.

DRD2 TaqI A polimorfizminin A1/A1, A1/A2 ve A2/A2 genotiplerinin dağılımı obez hastalarda sırasıyla %5.7, %48.6 ve %45.7; kontrol grubunda ise sırasıyla %3.3, %24.2 ve %72.5 olarak bulundu. A1/A2 genotipinin sıklığı obez grubunda kontrol grubuna göre, A2/A2 genotipinin sıklığı ise kontrol grubunda obez grubuna

göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek bulundu ($p < 0.0001$). A1 ve A2 allellerinin sıklığı karşılaştırıldığında, A1 allelinin sıklığı obez grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 2).

DRD2 TaqI B polimorfizminin B1/B1, B1/B2 ve B2/B2 genotip dağılımı obez hastalarda sırasıyla %4.3, %23.6 ve %72.1; kontrol grubunda ise sırasıyla %2.5, %24.2 ve %73.3 olarak bulundu. B1 ve B2 allellerinin sıklığı obez hastalarda 0.161 ve 0.839 iken, kontrol grubunda 0.146 ve 0.854 olarak bulundu. Genotip dağılımları ve allel sıklıkları iki grup arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Tablo 1. Obez ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyete göre karşılaştırılması

	Obez	Kontrol	p
Yaş ortalaması (orta±SS yıl)	39.5±10.7	38.9±12.9	P=0.6881
Yaş Aralığı	21-67	19-68	
Yaş Ortancası	40	37	
Kadın	121	65	<0.0001*
Erkek	19	55	<0.0001*
Toplam	140	120	

*Cinsiyete göre gruplar arası farklılık (p<0.05); SS: Standart Sapma

Tablo 2. Obez hastalarda ve kontrol grubu arasında *Taq1 A* polimorfizminin allel ve genotip sıklıklarının dağılımı

Genotip	Obez Hasta n(%)	Kontrol n(%)	Risk Oranı (GA %)	p
<i>A1/A1</i>	8 (5.7)	4 (3.3)	1.8 (0.52-6.00)	0.2715†
<i>A1/A2</i>	68 (48.6)	29 (24.2)	3.0 (1.74-5.05)	<0.0001*
<i>A2/A2</i>	64 (45.7)	87 (72.5)	0.3 (0.19-0.54)	<0.0001*
Allel	Obez Hasta n(%)	Kontrol n(%)	Risk Oranı (GA %)	p
<i>A1</i>	84 (30.0)	37 (15.4)	2.4 (1.52-3.63)	<0.0001*
<i>A2</i>	196 (70.0)	203 (84.6)	0.4 (0.28-0.66)	<0.0001*

*Genotip ve allel dağılımında gruplar arası farklılık (p<0.05); GA: güven aralığı; †: Fisher's Exact Test

Tablo 3. Obez hastalarda ve kontrol grubu arasında *Taq1 B* polimorfizminin allel ve genotip sıklıklarının dağılımı

Genotip	Obez Hasta n(%)	Kontrol n(%)	Risk Oranı (GA %)	p
<i>B1/B1</i>	6 (4.3)	3 (2.5)	1.7 (0.39-6.54)	0.3320†
<i>B1/B2</i>	33 (23.6)	29 (24.2)	1.0 (0.55-1.72)	0.4553
<i>B2/B2</i>	101 (72.1)	88 (73.3)	0.9 (0.54-1.63)	0.4700
Allel	Obez Hasta n(%)	Kontrol n(%)	Risk Oranı (GA %)	p
<i>B1</i>	45 (16.1)	35 (14.6)	1.1 (0.69-1.81)	0.3643
<i>B2</i>	235 (83.9)	205 (85.4)	0.9 (0.55-1.44)	0.3643

GA: güven aralığı; †: Fisher's Exact Test

HWE'na göre her iki polimorfizmde gözlenen genotip dağılımının beklenenden anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı.

Tartışma

Bu çalışmada DRD2 genindeki *Taq1 A* polimorfizminin *A1/A2* genotip dağılımı ve *A1* allelinin sıklığı erişkin obez hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek bulundu (p<0.05). Obez hasta grubunda *Taq1 B* polimorfizminin genotip dağılımları ve allel sıklıkları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel bir fark bulunmadı (p>0.05).

Spitz ve ark. (23), Kafkas kökenli 37 obez ve 139 kontrol grubunda yaptıkları bir çalışmada, obez grupta *A1* allel ve *B1* allel sıklığını kontrole göre anlamlı bir şekilde yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamız Spitz ve ark.'nın (23) bulduğu DRD2 *Taq1 A* polimorfizmi- obezite ilişkisini desteklemekte, fakat *Taq1 B* polimorfizmi- obezite ilişkisi açısından buldukları anlamlı ilişkiyi desteklememektedir. Blum ve ark. (24), DRD2

Taq1 A polimorfizmini Amerikalı 40 erişkin obez hasta ve 20 kontrol üzerinde çalışmışlar ve *A1* allelinin artmış obezite riski ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Noble ve ark. (25) ise DRD2 *Taq1 A* polimorfizmini Amerikalı 73 erişkin obez hastayı kontrole göre karşılaştırmış ve *A1* allelinin karbonhidrat tercihi, postpubertal obezite başlangıcı ve ailesel obezite hikayesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızın sonuçları, obezite ile DRD2 *Taq1 A1* allel ilişkisini gösteren bu çalışmaları da destekler tarzda çıkmıştır. Diğer taraftan DRD2 *Taq1 A* polimorfizmi ve erişkin obezite arasında ilişki bulunmayan çalışmalar da mevcuttur (26,27). Türkiye'de obezite açısından ilgili polimorfizmler sadece obez çocuklarda çalışılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre DRD2 *Taq1 A* (28,29) ve *Taq1 B1* (28) polimorfizmleri ile obezite arasında bir ilişki bulunamamıştır. Yetişkin obez grubunda *A1* alleli ve obezite arasında bulduğumuz ilişkinin aynı etnik köken ve coğrafyada yapılan çocuk obez grubundaki çalışmalarda bulunmamasının nedeni, ilerleyen yaşla birlikte çevresel faktörlerin bu allele sahip olan bireylerde obezite riskini daha fazla etkiliyor olması olabilir.

Cinsiyet sayısı açısından obez grup ile kontrol grubu arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu tespit edilse de, her iki polimorfizm cinsiyete göre gruplar arasında karşılaştırıldığında, toplamda bulunan sonuçlara benzer sonuçlar elde edildi. Bundan dolayı DRD2 *TaqI* A, *TaqI* B polimorfizmleri ve obezite arasındaki ilişki üzerinde cinsiyetin etkisi olmadığını düşünüyoruz.

Sonuç olarak, DRD2 A1 allelinin varlığı multifaktöriyel bir hastalık olan obezite gelişmesinde risk faktörlerinden biri olabilir. Bu bulgu ve diğer bulguların, obezitenin klinik parametrelerini de içine alacak şekilde planlanacağı daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Antipatis VJ, Gill TP. Obesity as a global problem. In: Björntorp P, editor. International Textbook of Obesity. 1. Baskı, Electronic. John Wiley and Sons Ltd; 2001:3-23.
2. Satman İ, Sengül AM, Uygur S, Satman I, Yılmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N, Karsidag K, Kalaça S, Özcan C, King H, The TURDEP Group. Population based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002;25(9):1551-56.
3. Taşan E. Identification, evaluation and epidemiology of obesity. *J Int Med Sci* 2005;1(37):1-4.
4. Hellerstein MK, Parks EJ. Obesity and Overweight. In: Gardner DG, Shobeck D, editors. Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology. 8. Baskı, New York: McGrawHill; 2007:796-816.
5. Beales P, Kopelman P, Vijayaraghavan S, Hitman GA. The molecular genetics of obesity. In: Bray G, Ryan DH, editors. Molecular Genetic Aspects of Obesity, Pennington Center Nutrition Series. 1. Baskı, Baton Rouge, LA: Louisiana State Press; 1996:534-45.
6. Small DM, Jones-Gotman M, Dagher A. Feeding-induced dopamine release in dorsal striatum correlates with meal pleasantness ratings in healthy human volunteers. *Neuroimage* 2003;19(4):1709-15.
7. De Leon J, Diaz FJ, Josiassen RC, Cooper TB, Simpson GM. Weight gain during a double-blind multidose clozapine study. *J Clin Psychopharmacol* 2007;27(1):22-7.
8. Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci* 1993; 16:299-321.
9. Blum K, Sheridan PJ, Wood RC, Braverman ER, Chen TJ, Cull JG, Comings DE. The D2 dopamine receptor gene as a determinant of reward deficiency syndrome. *J R Soc Med* 1996;89(7):396-400.
10. Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Thanos PK, Logan J, Alexoff D, Ding YS, Wong C, Ma Y, Pradhan K. Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. *Neuroimage* 2008;42(4):1537-43.
11. Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, Netusil N, Fowler JS. Brain dopamine and obesity. *Lancet* 2001;357(9253):354-7.
12. Fetissov SO, Meguid MM, Sato T, Zhang LH. Expression of dopaminergic receptors in the hypothalamus of lean and obese Zucker rats and food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;283(4): R905-10.
13. Orosco M, Rouch C, Nicolaidis S. Rostromedial hypothalamic monoamine changes in response to intravenous infusions of insulin and glucose in freely feeding obese Zucker rats: a microdialysis study. *Appetite* 1996;26(1):1-20.
14. Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS. The role of dopamine in motivation for food in humans: implications for obesity. *Expert Opin Ther Targets* 2002;6(5): 601-9.
15. Turner E, Ewing J, Shilling P, Smith TL, Irwin M, Schuckit M, Kelsoe JR. Lack of association between an RFLP near the D2 dopamine receptor gene and severe alcoholism. *Biol Psychiatry* 1992;31(3):285-90.
16. Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, Reed L, Magenis RE, Civelli O. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet* 1989;45(5):778-85.
17. Comings DE, Flanagan SD, Dietz G, Muhleman D, Knell E, Gysin R. The dopamine D2 receptor (DRD2) as a major gene in obesity and height. *Biochem Med Metab Biol* 1993;50(2):176-85.
18. Hauge XY, Grandy DK, Eubanks JH, Evans GA, Civelli O, Litt M. Detection and characterization of additional DNA polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene. *Genomics* 1991;10(3):527-30.
19. Noble EP, Blum K, Ritchie T, Montgomery A, Sheridan PJ. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry* 1991;48(7):648-54.
20. Castiglione CM, Deinard AS, Speed WC, Sirugo G, Rosenbaum HC, Zhang Y, Grandy DK, Grigorenko EL, Bonne-Tamir B, Pakstis AJ. Evolution of haplotypes at the DRD2 locus. *Am J Hum Genet* 1995;57(6):1445-56.
21. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
22. Oliveri RL, Annesi G, Zappia M, Civitelli D, De Marco EV, Pasqua AA, Annesi F, Spadafora P, Gambardella A, Nicoletti G, Branca D, Caracciolo M, Aguglia U, Quattrone A. The dopamine D2 receptor gene is a susceptibility locus for Parkinson's disease. *Mov Disord* 2000;15(1):127-31.

23. Spitz MR, Detry MA, Pillow P, Hu Y, Amos CI, Ki Hong W, Wu X. Variant alleles of the D2 dopamine receptor gene and obesity. *Nutrition Research* 2000;20(3):371-80.
24. Blum K, Braverman ER, Wood RC, Gill J, Li C, Chen TJ, Taub M, Montgomery A, Sheridan PJ, Cull JG. Increased prevalence of the TaqI A1 allele of the dopamine receptor gene (DRD2) in obesity with comorbid substance use disorder: a preliminary report. *Pharmacogenetics* 1996; 6(4):297-305.
25. Noble EP, Noble RE, Ritchie T, Syndulko K, Bohlman MC, Noble LA, Zhang Y, Sparkes RS, Grandy DK. D2 dopamine receptor gene and obesity. *Int J Eat Disord* 1994; 15(3):205-17.
26. Nisoli E, Brunani A, Borgomainerio E, Tonello C, Dioni L, Briscini L, Redaelli G, Molinari E, Cavagnini F, Carruba MO. D2 dopamine receptor (DRD2) gene Taq1A polymorphism and the eating-related psychological traits in eating disorders (anorexia nervosa and bulimia) and obesity. *Eat Weight Disord* 2007;12(2):91-6.
27. Hardman CA, Rogers PJ, Timpson NJ, Munafò MR. Lack of association between DRD2 and OPRM1 genotypes and adiposity. *Int J Obes (Lond)* 2014;38(5):730-6.
28. Col Araz N, Nacak M, Oguzkan Balci S, Benlier N, Araz M, Pehlivan S, Balat A, Aynacioglu AS. Childhood obesity and the role of dopamine D2 receptor and cannabinoid receptor-1 gene polymorphisms. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;16(12):1408-12.
29. Ergun MA, Karaoguz MY, Koc A, Camurdan O, Bideci A, Yazici AC, Cinaz P. The apolipoprotein E gene and Taq1A polymorphisms in childhood obesity. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010;14(3):343-5.