



ARTIGO ORIGINAL

Influência dos polimorfismos no receptor beta 2 adrenérgico na presença de broncoespasmo induzido pelo exercício em adolescentes[☆]



Cássio Leandro Mühe Consentino^{a,*}, Lupe Furtado-Alle^a, Larissa Rosa da Silva^a, Wendell Arthur Lopes^b, Luciane Viater Tureck^a, Gerusa Einsfeld Milano^a, Leilane Lazarotto^a, Cláudia Regina Cavaglieri^c e Neiva Leite^a

^a Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Universidade Estadual de Maringá (UEM), Ivaiporã, PR, Brasil

^c Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP, Brasil

Recebido em 2 de março de 2015; aceito em 9 de junho de 2015

Disponível na Internet em 9 de outubro de 2015

PALAVRAS-CHAVE

Adolescente;
Broncoespasmo
induzido pelo
exercício;
Gene *ADRB2*

Resumo

Objetivo: Determinar a influência dos polimorfismos dos receptores adrenérgicos beta 2 (*ADRB2*) no desencadeamento de broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE) em adolescentes. **Métodos:** Os sujeitos foram divididos em dois grupos: BIE presente (BIE+) (n=45) e BIE ausente (BIE-) (n=115). O teste de broncoprovocação com exercício foi feito com protocolo que consistiu em caminhar/correr durante no mínimo oito minutos em intensidade superior a 85% da frequência cardíaca máxima, considerando como BIE presente uma queda de 10% do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁). A genotipagem do gene *ADRB2* foi feita pelo método Taqman por meio do aparelho Step One Plus. Para análise estatística usaram-se os testes *t* independente, U de Mann-Whitney, qui-quadrado e coeficiente de correlação de Spearman. **Resultados:** Idade, massa corporal, estatura, VEF₁, CVF e relação VEF₁/CVF foram menores no grupo BIE+ em comparação com o BIE- ($p<0,05$). Não houve diferenças significativas na proporção do alelo na posição 27 e dos genótipos *Arg16Gly* e *Gln27Glu* entre os grupos BIE+ e BIE- ($p=0,26$; $p=0,97$ e $p=0,43$, respectivamente). Entretanto, verificou-se uma tendência à significância estatística na maior proporção do alelo *Gly16* para o grupo BIE+ comparado com o BIE- ($p=0,08$).

Conclusões: A presença de polimorfismos associados ao alelo *Glu27* e os genótipos *Arg16Gly* e *Gln27Glu* não influenciam no BIE. Porém, a tendência estatística observada para uma maior frequência do alelo *Gly16* nos indivíduos com a presença de BIE pode ser considerado indício da influência de polimorfismos no gene *ADRB2* no BIE em adolescentes.

© 2015 Sociedade de Pediatria de São Paulo. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença CC BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.pt>).

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rppede.2015.06.021>

[☆] Este artigo faz parte da dissertação de mestrado de Cássio Leandro Mühe Consentino.

* Autor para correspondência.

E-mail: cassioleandromc@hotmail.com (C.L.M. Consentino).

KEYWORDS

Adolescent;
Exercise-induced
bronchospasm;
ADRB2 gene

Influence of polymorphisms of the beta-2 adrenergic receptor on the presence of exercise-induced bronchospasm in adolescents**Abstract**

Objective: To determine the influence of polymorphisms of the beta-2 adrenergic receptor (*ADRB2*) in triggering exercise-induced bronchospasm (EIB) in adolescents.

Methods: The subjects were divided into two groups: present EIB (EIB+) (n=45) and absent EIB (EIB-) (n=115). The bronchial provocation test with exercise was performed with a protocol that consisted of walking/running for at least eight minutes at high intensity, i.e., >85% of maximum heart rate, considering EIB+ as a 10% decrease in forced expiratory volume in one second (FEV1). The genotyping of the *ADRB2* gene was performed by the Taqman method, using the Step One Plus system. Independent *t*-test, Mann-Whitney and Chi-square tests, as well as Spearman's correlation coefficient were used for the statistical analysis.

Results: Age, body weight, height, FEV1, FVC and FEV1/FVC ratio were lower in the EIB+ group when compared to EIB- ($p < 0.05$). There were no significant differences in the proportion of the allele at position 27 and *Arg16Gly* and *Gln27Glu* genotypes between the EIB+ and EIB- groups ($p = 0.26$; $p = 0.97$ and $p = 0.43$, respectively). However, there was a trend towards statistical significance regarding the greater proportion of the Gly16 allele for the EIB+ when compared to the EIB- group ($p = 0.08$).

Conclusions: The presence of polymorphisms associated with the *Glu27* allele and *Arg16Gly* and *Gln27Glu* genotypes had no influence on EIB. However, the statistical trend towards greater frequency of the *Gly16* allele in individuals with EIB+ can be considered evidence of the influence of polymorphisms of the *ADRB2* gene on EIB in adolescents.

© 2015 Sociedade de Pediatria de São Paulo. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

O broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE) é definido como estreitamento transitório das vias aéreas que acontece logo após exercícios intensos em até 90% dos indivíduos asmáticos¹ e em quase 20% das pessoas sem histórico de doenças respiratórias.² A presença de excesso de peso pode contribuir para aumento da gravidade do BIE em asmático.³ O acúmulo excessivo de tecido adiposo na região central pode alterar a mecânica pulmonar e a resposta inflamatória das vias aéreas, levar ao aumento da contratilidade e da responsividade da musculatura lisa dos brônquios⁴ e limitar assim a prática de exercícios físicos⁵ como terapêutica na asma⁶ e na obesidade.⁷

Algumas alterações genéticas, como os polimorfismos nos receptores adrenérgicos beta 2 (*ADRB2*), têm sido associadas à presença de asma⁸ e de obesidade.⁹ O gene do *ADRB2* está localizado no cromossomo 5q31 e pode ser encontrado em diversas regiões do corpo, inclusive na musculatura lisa.¹⁰ Os *ADRB2* atuam mediados pela ação da adrenalina e da norepinefrina e promovem o relaxamento do músculo liso, até na região pulmonar,¹¹ além de desempenhar papel importante na broncodilatação durante o exercício em indivíduos saudáveis.¹² Os polimorfismos *Arg16Gly* e *Gln27Glu* do gene do *ADRB2* vêm sendo relacionados a sintomas da asma,⁷ incluindo a redução da função pulmonar e da resposta broncodilatadora à medicação, pois têm influência negativa no efeito da medicação broncodilatadora,¹³ recurso terapêutico que faz parte da prevenção do BIE pré-exercício.¹⁴

Recentemente, nosso grupo de pesquisas verificou maior presença de polimorfismo *Arg16Gly* em crianças e

adolescentes asmáticos em comparação com os controles. Além disso, verificou-se tendência a maior frequência do polimorfismo *Gly16* em asmáticos com excesso de peso.¹⁵ Contudo, a influência da presença de polimorfismo no receptor *ADRB2* na presença de BIE em crianças e adolescentes ainda não foi investigada. Nossa hipótese é que a maior frequência de polimorfismo no receptor *ADRB2* poderia estar relacionada à maior presença de BIE nessa população. Portanto, o propósito do presente estudo foi determinar a influência dos polimorfismos no gene *ADRB2* no desencadeamento de BIE em adolescentes.

Método

Estudo transversal com 160 adolescentes de ambos os sexos, de etnia branca, entre 9-17 anos, selecionados por conveniência e provenientes de escolas públicas de Curitiba (PR). A amostra foi dividida em dois grupos, BIE presente (BIE+) (n=45) e BIE ausente (BIE-) (n=115). Constatou-se presença de BIE quando houve queda maior ou igual a 10% do VEF₁ em relação ao valor basal no teste de broncoprovocação por exercício. Todos os participantes e responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, conforme projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (protocolo n° 2460.067/2011-03). O cálculo amostral foi feito com nível de confiança de 95% e a fórmula descrita por Santos.¹⁶ O tamanho da amostra calculado foi de 246 escolares. Entretanto, o número de participantes foi de 160 adolescentes, 65% da amostra prevista,

em função da complexidade dos exames e da necessidade de coleta sanguínea.

Mensurou-se a massa corporal (kg) em balança digital (Toledo®), com resolução de 0,1kg, e a estatura (cm) em estadiômetro (Sanny®) com resolução de 0,1cm. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado pela fórmula $IMC (kg/m^2) = \text{Massa corporal (kg)} / \text{Estatura}^2 (m)$. Essa variável foi convertida para IMC-escore Z, por meio do *software* WHO Anthroplus v.1.0.4 desenvolvido pela Organização Mundial da Saúde (OMS), classificado de acordo com os pontos de corte propostos pela OMS em 2006.¹⁷

A circunferência abdominal (CA) foi mensurada em centímetros (cm) com fita antropométrica inextensível (Cardiomed®), medida no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca, com o indivíduo de pé, abdome relaxado e braços ao longo do corpo. Para classificação, usaram-se os valores propostos por Fernández *et al.*, em 2004.¹⁸

Para o diagnóstico da asma, conforme o III Consenso Brasileiro do Manejo da Asma (SBPT, 2002),¹⁹ usaram-se a avaliação médica e o questionário do International Study of Asthma and Allergies in Childhood (Isaac) e confirmou-se a doença por meio da questão de número 6.

A função pulmonar foi avaliada por espirometria no pré-exercício e pós-exercício (5, 10 e 15 minutos). Fizeram-se três manobras, com o avaliado em posição sentada e com clipe nasal. Foram selecionadas as curvas que apresentaram os maiores valores para as variáveis de volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e capacidade vital forçada (CVF) em litros (L). Os valores preditos e o coeficiente expiratório forçado (VEF₁/CVF) foram mostrados pelo *software* do espirômetro (marca One Flow®), que usa como referência os valores propostos por Knudson *et al.*²⁰

O teste de broncoprovocação com exercício foi feito em ambiente controlado (temperatura entre 20-25°C e umidade relativa de 50%), no período da tarde, em esteira ergométrica (modelo Master Super ATL-Inbramed), com um protocolo que consistiu em caminhar/correr durante oito minutos, em intensidade superior a 85% da frequência cardíaca máxima (FC_{máx}), de acordo com o guia da American Thoracic Society.¹⁴ A FC_{máx} foi calculada por meio da fórmula proposta por Tanaka *et al.*²¹ e monitorada, durante o teste, por frequencímetro (Polar®). Os avaliados foram orientados a não ingerir bebidas à base de cafeína, duas horas antes da avaliação, suspender o uso de broncodilatadores de ação curta e longa, 48 horas e cinco dias antes das avaliações, respectivamente. O exercício não foi feito quando houve relato de crise de asma ou infecção viral nas vias aéreas nas últimas quatro semanas antes do teste. A intensidade da queda foi calculada pela queda máxima do VEF₁ (QMVEF₁) por meio da equação: $QMVEF_1 = [(VEF_1 \text{ pré-exercício} - VEF_1 \text{ pós-exercício mais baixo}) / VEF_1 \text{ pré-exercício}] \times 100$.¹⁴

A extração do DNA ocorreu por meio de amostra sanguínea, com a genotipagem dos polimorfismos *Arg16Gly* e *Gln27Glu* do gene *ADRB2* pelo método *Taqman*, por meio do kit *TaqMan SNP genotyping assays* da Applied Biosystems e do *software Eppendorf realplex v. 1.5*, com o uso do aparelho de Step One Plus. A seguir, foi feito um gráfico de dispersão (XY) para a separação FAM-VIC e consequente determinação do genótipo de cada adolescente para cada polimorfismo. Classificaram-se como usuais os indivíduos homocigóticos para o aminoácido arginina no códon 16 (*ArgArg*) e glutamina

no códon 27 (*GlnGln*) e como portadores os indivíduos homocigóticos, na posição 16, para o aminoácido glicina (*GlyGly*) e, na posição 27, para ácido glutâmico (*GluGlu*), bem como os heterocigóticos.

A análise estatística foi feita no *software* SPSS versão 19. A normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação dos grupos, aplicou-se o teste *t* de Student nas variáveis paramétricas e o teste U de Mann-Whitney nas não paramétricas. O teste qui-quadrado foi usado para analisar as proporções entre os grupos. A correlação entre as variáveis foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman e classificadas de acordo com Dancy e Reidy.²² O nível de significância adotado foi de $p < 0,050$.

Resultados

As características basais dos grupos são mostradas na *tabela 1*. Foram encontradas diferenças nas variáveis idade, massa corporal, estatura, VEF₁ (tanto em litros quanto no percentual do predito) e CVF em litros e na relação VEF₁/CVF, menores no grupo BIE+.

Com relação aos polimorfismos do gene do *ADRB2*, não foram encontradas diferenças significativas para o alelo 27 e para os genótipos do polimorfismo *Arg16Gly* e *Gln27Glu* entre os grupos BIE+ e BIE- ($p=0,26$; $p=0,97$ e $p=0,43$, respectivamente). Porém, foi encontrada uma tendência à significância estatística para maior proporção de polimorfismo do alelo 16 entre o grupo BIE+ comparado com o BIE- ($p=0,08$) (*tabela 2*).

O percentual de queda máxima do VEF₁ apresentou correlação moderada com a presença de asma ($\rho=0,47$; $p < 0,01$). Entretanto, para as variáveis IMC escore-z ($\rho=0,01$), CA ($\rho=0,20$), polimorfismo *Arg16Gly* ($\rho=-0,01$) e *Gln27Glu* ($\rho=-0,07$) não foram encontradas correlações significativas.

Discussão

O objetivo do presente estudo foi determinar a influência dos polimorfismos no gene *ADRB2* no desencadeamento de BIE em adolescentes. Não foram encontradas diferenças significativas nas frequências para o alelo 27 e para os genótipos do alelo *Arg16Gly* e *Gln27Glu* no grupo BIE+ comparado com o BIE-, o que refuta, em parte, nossa hipótese inicial. Porém, verificou-se uma tendência à significância estatística para uma maior frequência do alelo 16 no grupo BIE+ comparado com o BIE-. Esse achado pode ser considerado um indício da relação entre polimorfismos no gene *ADRB2* e a presença de BIE.

Os indivíduos com diagnóstico de BIE+ apresentaram função pulmonar reduzida em relação aos BIE-, com exceção da CVF (% do predito), que não diferiu entre os dois grupos.²³ Por outro lado, estudos anteriores não identificaram tais diferenças ao avaliar adolescentes obesos,²⁴ obesos asmáticos³ e com rinite.²⁵ Essas divergências podem ser justificadas pelas diferenças na idade e na estatura inicial dos grupos na presente pesquisa.

O percentual de queda máxima VEF₁ apresentou correlação moderada com histórico de asma, o que difere do resultado encontrado por Cichalewski *et al.*²⁶ As diferenças

Tabela 1 Características antropométricas e espirométricas basais dos grupos broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE) presente (+) e ausente (-)

Variáveis	BIE+ (n=45)	BIE- (n=115)	t ou U	p-valor
Idade (anos) ^a	13,6±1,6	14,5±1,5**	4,05	0,00
Massa corporal (kg)	65,0±15,2	74,5±18,3**	-3,09	0,00
Estatura (cm)	160,4±9,4	165,5±8,9**	-3,18	0,00
IMC (kg/m ²)	25,3±5,5	27,0±5,3	-1,88	0,06
IMC escore-z	1,6±1,3	1,9±1,2	-1,30	0,19
CA (cm)	84,6±13,6	84,9±13,9	1,57	0,12
VEF ₁ (L)	2,9±0,5	3,4±0,6**	-4,28	0,00
VEF ₁ (% predito)	95,4±10,8	102,0±18,8*	-2,21	0,02
CVF (L)	3,4±0,7	3,9±0,8**	-3,57	0,00
CVF (% predito)	102,3±12,2	106,0±13,4	-1,61	0,10
VEF ₁ /CVF (%) ^a	86,7±10,3	88,5±7,0*	2,01	0,04

IMC, índice de massa corporal; CA, circunferência abdominal; VEF₁, volume expiratório forçado no 1º segundo; CVF, capacidade vital forçada; VEF₁/CVF, razão entre VEF₁ e CVF.

Valores expressos em média ± desvio padrão.

*p<0,05; **p<0,01.

^a Variáveis que não apresentaram distribuição normal.

Tabela 2 Frequência dos alelos e genótipos do gene *ADRB2* entre os grupos broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE) presente (+) e ausente (-)

	BIE+	BIE-	χ ²	p-valor
Alelos				
Arg	30 (37,5%)	103 (48,6%)	2,87	0,08
Gly	50 (62,5%)	109 (51,4%)		
Total	80 (100%)	212 (100%)		
Gln	47 (69,1%)	140 (69,3%)	0,001	0,97
Glu	21 (30,9%)	62 (30,7%)		
Total	68 (100%)	202 (100%)		
Genótipos				
ArgArg	7 (17,5%)	28 (26,4%)	2,64	0,26
ArgGly	16 (40,0%)	47 (44,4%)		
GlyGly	17 (42,5%)	31 (29,2%)		
Total	40 (100%)	106 (100%)		
GlnGln	19 (55,9%)	51 (50,5%)	1,68	0,43
GlnGlu	9 (26,5%)	38 (37,6%)		
GluGlu	6 (17,6%)	12 (11,9%)		
Total	34 (100%)	101 (100%)		

Arg, arginina; Gly, glicina; Gln, glutamina; Glu, ácido glutâmico; valores expressos em frequência absoluta e relativa.

metodológicas quanto ao diagnóstico do BIE podem explicar essa discrepância, visto que na presente pesquisa foi feito teste de broncoprovocação em esteira e, no estudo de Cichalewski *et al.*,²⁶ foi feito 45 minutos após uma aula de educação física. Por outro lado, ambas as pesquisas não identificaram relação do BIE com IMC.

Não foram encontrados estudos anteriores que avaliassem a frequência dos polimorfismos *ADRB2* em indivíduos com e sem BIE. Nesta pesquisa, a frequência do alelo *Gly16* foi de 62,5% e 30,7% para o alelo *Glu27*. A proporção do primeiro foi mais elevada do que em estudo feito em asmáticos que encontrou 46,6%.⁸ Entretanto, é semelhante aos achados para a população em geral (61%).²⁷ A frequência do alelo *Glu27* foi semelhante entre os estudos.^{8,27}

Estudo feito por Snyder *et al.*²⁸ observou, em adultos saudáveis, que aqueles com o genótipo *Arg16Arg* e *Gly16Gly*

têm respostas similares à broncodilatação durante o exercício. Entretanto, após o término da prova, os indivíduos homocigotos para o alelo *Arg16* retornam de forma mais rápida aos valores basais ao ser comparados com os homocigóticos *Gly16*. Os autores justificam tal achado por uma possível dessensibilização do gene *ADRB2* nessa população. Esses resultados diferem dos encontrados neste estudo, no qual não se notaram diferenças na frequência entre os genótipos, o que pode realmente confirmar não haver influência desse gene nos indivíduos com BIE.

Os polimorfismos do gene *ADRB2* podem estar relacionados com a asma principalmente por estar associados a maior sensibilidade nas vias aéreas.⁸ A hiper-responsividade brônquica é uma das características primordiais da asma e pode ser desencadeada por diversos fatores, dentre eles o exercício.²⁹ Estudo feito por Fukui *et al.*³⁰ mostrou que

os indivíduos com maior responsividade ao teste provocado por metacolina apresentavam polimorfismo no códon 16. O BIE pode ser considerado como uma resposta exacerbada das vias aéreas.¹ Assim, esperava-se que os polimorfismos apresentassem influência na resposta broncoconstritora ao exercício, o que acabou não ocorrendo.

O desenho transversal do estudo limita as relações de casualidade entre as variáveis. Outra questão a destacar como fator limitante é o baixo número de participantes para as análises de polimorfismos genéticos, o que leva à interpretação cautelosa dos achados da pesquisa. Sugerem-se estudos com maior número de indivíduos para confirmar a associação entre a presença do alelo *Gly16* e a manifestação de BIE. Há necessidade de novas investigações com o controle das limitações citadas e com o uso da espirometria nos tempos 3; 5; 10 15 e 30 minutos após teste de broncoprovocação por exercício, para evitar possíveis erros de diagnóstico do BIE.

Conclui-se que a presença de polimorfismos associados ao alelo *Glu27* e aos genótipos *Arg16Gly* e *Gln27Glu* não influenciou na manifestação de BIE. Porém, a tendência estatística observada para uma maior frequência do alelo *Gly16* nos indivíduos com a presença de BIE pode ser considerada um indício da influência de polimorfismos no gene *ADRB2* no BIE em adolescentes.

Financiamento

Fundação Araucária, processo n° 19.281.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse. LFA é pesquisadora da Fundação Araucária, LRS é bolsista de doutorado da Capes, WAL é bolsista de doutorado do CNPq, CRC e NL são bolsistas de produtividade do CNPq.

Referências

- Weiler JM, Anderson SD, Randolph C, Bonini S, Craig TJ, Pearlman DS, et al. Pathogenesis, prevalence, diagnosis, and management of exercise-induced bronchoconstriction: a practice parameter. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2010;105 Suppl 6:1–47.
- Johansson H, Norlander K, Hedenström H, Janson C, Nordang L, Nordvall L, et al. Exercise-induced dyspnea is a problem among the general adolescent population. *Respir Med.* 2014;108:852–8.
- Lopes WA, Rosário N, Leite N. Broncoespasmo induzido pelo exercício em adolescentes asmáticos obesos e não obesos. *Rev Paul Pediatr.* 2010;28:36–40.
- Poulain M, Doucet M, Major GC, Drapeau V, Sériès F, Boulet LP, et al. The effect of obesity on chronic respiratory diseases: pathophysiology and therapeutic strategies. *CMAJ.* 2006;174:1293–9.
- Oliveira MA, Leite N. Asma brônquica, doença obstrutiva pulmonar e exercício físico. In: Nabil G, Dioguardi GS, editors. *Cardiologia do esporte e do exercício.* São Paulo: Atheneu; 2007. p. 443–54.
- Welsh L, Kemp JG, Roberts RG. Effects of physical conditioning on children and adolescents with asthma. *Sports Med.* 2005;35:127–41.

- Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. Energy balance and obesity. *Circulation.* 2012;126:126–32.
- Paiva AC, Marson FA, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Asthma: *Gln27Glu* and *Arg16Gly* polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor gene as risk factors. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014;10:8.
- Angeli CB, Kimura L, Auricchio MT, Vicente JP, Mattevi VS, Zembrzuski VM, et al. Multilocus analyses of seven candidate genes suggest interacting pathways for obesity-related traits in Brazilian populations. *Obesity (Silver Spring).* 2011;19:1244–51.
- Turner SW, Khoo SK, Laing IA, Palmer LJ, Gibson NA, Rye P, et al. Beta2 adrenoceptor *Arg16Gly* polymorphism, airway responsiveness, lung function and asthma in infants and children. *Clin Exp Allergy.* 2004;34:1043–8.
- Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels (GRAC), 5th ed. *Br J Pharmacol.* 2011;164 Suppl 1:51–324.
- Antonelli A, Torchio R, Bertolaccini L, Terzi A, Rolfo F, Agostini P, et al. Contribution of β 2-adrenergic receptors to exercise-induced bronchodilation in healthy humans. *Respir Physiol Neurobiol.* 2012;184:55–9.
- Fuso L, Di Perna A, Longobardi A, Trovè A, Bisceglia M, Bibi BF, et al. Polymorphism of Beta2-adrenoceptor and regular use of formoterol in asthma: preliminary results. *ISRN Pulmonology.* 2013;2013:1–6.
- Parsons JP, Hallstrand TS, Mastronarde JG, Kaminsky DA, Rundell KW, Hull JH, et al. An official American thoracic society clinical practice guideline: exercise-induced bronchoconstriction. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:1016–27.
- Leite N, Lazarotto L, Milano GE, Titski AC, Consentino CL, Mattos F, et al. *ADRB2* gene association with overweight and asthma in children and adolescents and its relationship with physical fitness. *Rev Paul Pediatr.* 2015;33:381–6.
- Publicações de Turismo [página na Internet]. Cálculo amostral: calculadora on-line [acessado em 03 de fevereiro de 2015]. Disponível em: <http://www.calculoamostral.vai.la>
- World Health Organization. WHO child growth standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for height and body mass index-for-age: methods and development. Geneva: WHO; 2006.
- Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-America, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr.* 2004;145:439–44.
- Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. III Consenso Brasileiro de manejo da asma. *J Pneumol.* 2002; 28:S6–51.
- Knudson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. The maximal expiratory flow-volume curve Normal standards, variability, and effects of age. *Am Rev Respir Dis.* 1976;113:587–600.
- Tanaka H, Monahan KD, Seals DR. Age-predicted maximal heart rate revisited. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:153–6.
- Dancey C, Reidy J. Estatística sem matemática para psicologia: usando SPSS para Windows. Porto Alegre: Artmed; 2006.
- Vogt B, Falkenberg C, Weiler N, Frerichs I. Pulmonary function testing in children and infants. *Physiol Meas.* 2014;35:59–90.
- Ulger Z, Demir E, Tanaç R, Gökşen D, Güllen F, Darcan S, et al. The effect of childhood obesity on respiratory function tests and airway hyperresponsiveness. *Turk J Pediatr.* 2006;48:43–50.
- Rakkhong K, Kamchaisatian W, Vilaiyuk S, Sasisakulporn C, Teawsomboonkit W, Pornsuriyasak P, et al. Exercise-induced bronchoconstriction in rhinitis children without asthma. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2011;29:278–83.
- Cichalewski Ł, Majak P, Jerzyńska J, Stelmach W, Kaczmarek A, Malewska K, et al. Prevalence of exercise-induced cough in schoolchildren: a pilot study. *Allergy Asthma Proc.* 2015;36:65–9.
- Liggett SB. β 2-adrenergic receptor pharmacogenetics. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:197–201.
- Snyder EM, Beck KC, Dietz NM, Joyner MJ, Turner ST, Johnson BD. Influence of β 2-Adrenergic receptor genotype on

- airway function during exercise in healthy adults. *Chest*. 2006;129:762–70.
29. Papaiwannou A, Zarogoulidis P, Porpodis K, Spyrtos D, Kioumis I, Pitsiou G, et al. Asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome (ACOS): current literature review. *J Thorac Dis*. 2014;6:146–51.
30. Fukui Y, Hizawa N, Takahashi D, Maeda Y, Jinushi E, Konno S, et al. Association between nonspecific airway hyper-responsiveness and Arg16Gly β 2-adrenergic receptor gene polymorphism in asymptomatic healthy Japanese subjects. *Chest*. 2006;130:449–54.