



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ROUZE MARGARETE REGO DE OLIVEIRA

A IMPORTÂNCIA DA NGS – TESTE GENÉTICO DE NOVA GERAÇÃO
NO DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS RARAS:
HIPERTERMIA MALIGNA E GALACTOSEMIA

GOIÂNIA

2025

ROUZE MARGARETE REGO DE OLIVEIRA

**A IMPORTÂNCIA DA NGS – TESTE GENÉTICO DE NOVA GERAÇÃO NO
DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS RARAS:
HIPERTERMIA MALIGNA E GALACTOSEMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Biomedicina, da
Pontifícia Universidade Católica de Goiás,
como requisito para conclusão da graduação
em Ciências Biológicas Modalidades Médicas
– Biomedicina.

Orientadora: Profa. Ma. Ivanise Correia da Silva
Mota

GOIÂNIA

2025

RESUMO

O avanço da biotecnologia, especialmente com a introdução do Next Generation Sequencing (NGS), trouxe novas possibilidades para a identificação precoce de doenças raras. O presente trabalho tem como objetivo analisar a importância da NGS no diagnóstico de doenças raras, com ênfase na Hipertermia Maligna e na Galactosemia. A metodologia utilizada foi uma revisão narrativa de literatura, com abordagem qualitativa e exploratória, baseada em artigos publicados entre 2010 e 2025. Os resultados demonstram que o NGS possibilita a detecção rápida e precisa de mutações genéticas, reduzindo o tempo diagnóstico, aprimorando a conduta terapêutica e contribuindo para a prevenção de complicações graves. No entanto, barreiras como o custo elevado, a limitação de infraestrutura laboratorial e a falta de políticas públicas efetivas ainda dificultam sua implementação ampla no Brasil. Conclui-se que a inserção da NGS no sistema de saúde é essencial para a equidade diagnóstica e o avanço científico na área das doenças raras.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças raras. Hipertermia maligna. Galactosemia. Sequenciamento genético. NGS.

ABSTRACT

The advancement of biotechnology, especially with the introduction of Next Generation Sequencing (NGS), has brought new possibilities for the early identification of rare diseases. This study aims to analyze the importance of NGS in the diagnosis of rare diseases, focusing on Malignant Hyperthermia and Galactosemia. The methodology used was a narrative literature review with a qualitative and exploratory approach, based on articles published between 2010 and 2025. The results show that NGS enables rapid and accurate detection of genetic mutations, reducing diagnostic time, improving therapeutic management, and contributing to the prevention of severe complications. However, barriers such as high cost, limited laboratory infrastructure, and lack of effective public policies still hinder its widespread implementation in Brazil. It is concluded that integrating NGS into the healthcare system is essential for diagnostic equity and scientific progress in the field of rare diseases.

Keywords: Rare diseases. Malignant hyperthermia. Galactosemia. Genetic sequencing. NGS.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. METODOLOGIA.....	6
3. DESENVOLVIMENTO.....	8
3.1 DOENÇAS RARAS E DESAFIOS DIAGNÓSTICOS.....	8
3.1.1 Conceitos: Hipertermia Maligna e Galactosemia.....	9
3.1.2 Fisiopatologia da Hipertermia Maligna e Galactosemia.....	10
3.2 APLICAÇÕES DO NGS NAS DOENÇAS RARAS.....	14
3.3 HIPERTERMIA MALÍGNA.....	15
3.3.1 Aspectos Genéticos e Diagnóstico.....	15
3.4 GALACTOSEMIA.....	16
3.4.1 Diagnóstico Molecular e Implicações Clínicas.....	16
3.4.1.1 Marcadores Biológicos.....	16
3.4.1.2 Marcadores Genéticos.....	17
3.5 BENEFÍCIOS E LIMITAÇÕES DO USO DO NGS.....	17
3.6 A TECNOLOGIA DO NGS.....	19
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
5. REFERÊNCIAS.....	20

1 INTRODUÇÃO

Como afirmam Pereira e Mota (2024), compreender e difundir o uso do Next Generation Sequencing (NGS) “é fundamental para promover uma biomedicina mais equitativa, eficiente e voltada à precisão diagnóstica”. As doenças raras configuram um conjunto heterogêneo de enfermidades que, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), afetam até 65 indivíduos a cada 100.000 pessoas, totalizando entre 6.000 e 8.000 tipos diferentes. No Brasil, estima-se que mais de 13 milhões de pessoas convivam com alguma dessas condições, caracterizadas por manifestações clínicas complexas e de difícil diagnóstico (Ministério da Saúde, 2021).

Como destacam Van Karnebeek et al. (2023), “As doenças raras continuam um desafio global para os sistemas de saúde, especialmente em países com desigualdade de acesso a exames especializados”.

O diagnóstico dessas doenças são geralmente tardios, podendo levar anos até a identificação da causa genética. Essa demora acarreta sofrimento físico e emocional aos pacientes e às famílias, além de aumentar os custos médicos e comprometer a eficácia terapêutica (Van Karnebeek et al., 2023).

Chen et al. (2021) ressaltam que “a ausência de diagnóstico precoce é um dos maiores entraves na gestão das doenças genéticas raras”, sendo essencial a aplicação de métodos moleculares mais sensíveis e abrangentes.

Nesse contexto, o Next Generation Sequencing (NGS) — ou Sequenciamento de Nova Geração — representa um marco na evolução da genética molecular. Essa tecnologia permite a leitura simultânea de milhões de fragmentos de DNA, identificando mutações e variações genéticas com alta precisão e agilidade (Hennessy et al., 2021). De acordo com Pereira e Mota (2024), o NGS “amplia de forma significativa a capacidade diagnóstica da biomedicina moderna, promovendo a integração entre o laboratório e a prática clínica”.

Nesse sentido, o avanço do NGS revolucionou a detecção de doenças raras de origem genética, oferecendo novas perspectivas para o tratamento e o aconselhamento familiar. A aplicação dessa técnica possibilita identificar mutações associadas a diversas patologias, reduzindo o tempo do diagnóstico e permitindo intervenções precoces (Pereira e Mota, 2024).

Segundo Gill, Budd e Hughes (2021), “Essa ferramenta NGS tornou-se

indispensável para o diagnóstico de doenças metabólicas e neuromusculares, especialmente aquelas de difícil caracterização clínica”.

Dentre as doenças raras estudadas, destacam-se a Hipertermia Maligna e a Galactosemia, ambas com base genética, mas manifestações clínicas distintas: A Hipertermia Maligna é uma condição farmacogenética associada a mutações nos genes RYR1 e CACNA1S, levando a uma resposta hipermetabólica durante a anestesia (Ribeiro, 2023). A Galactosemia é um erro inato do metabolismo dos carboidratos, decorrente da deficiência das enzimas envolvidas na conversão da galactose em glicose, resultando no acúmulo de substâncias tóxicas no organismo (Mehta et al., 2020).

Desse modo a detecção precoce dessas enfermidades é determinante para evitar complicações e promover uma conduta terapêutica adequada. Hennessy et al. (2021) destacam que “o uso do NGS em programas de triagem neonatal tem permitido o diagnóstico molecular de diversas doenças metabólicas, antes mesmo do aparecimento dos sintomas”. Isso reforça a relevância dessa ferramenta na prática biomédica, sobretudo em ambientes clínicos e laboratoriais que buscam a medicina personalizada.

No Brasil, políticas públicas e programas como a Rede Especializada em Doenças Raras e o Projeto Raras Brasil têm impulsionado o acesso a exames de alta complexidade e incentivado o uso de tecnologias de sequenciamento (Ministério da Saúde, 2021).

Contudo, ainda há significativos desafios relacionados ao custo, à infraestrutura laboratorial e à capacitação de profissionais. Segundo Calvo e Mootha (2020), a implementação de tecnologias genéticas avançadas “exige investimento contínuo em pesquisa, formação técnica e infraestrutura, sem os quais a inovação não se traduz em benefício populacional”.

Assim, este trabalho tem como objetivo analisar a importância do NGS no diagnóstico das doenças raras, com foco na Hipertermia Maligna e na Galactosemia, evidenciando suas contribuições para o diagnóstico precoce e a prática biomédica moderna.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho caracteriza-se como uma revisão narrativa de literatura,

com abordagem qualitativa e exploratória, voltada à análise do uso do NGS no diagnóstico de doenças raras, especialmente Hipertermia Maligna e Galactosemia. Segundo Pereira e Mota (2024), a revisão narrativa “possibilita integrar informações científicas recentes, e contribui na compreensão das tendências, desafios e lacunas existentes na pesquisa sobre determinados temas”. Assim, este estudo buscou reunir evidências teóricas atualizadas que sustentem a relevância do NGS no campo biomédico.

A coleta de dados foi realizada entre janeiro de 2010 e julho de 2025, utilizando-se bases de dados nacionais e internacionais, como PubMed, SciELO, ScienceDirect e Google Scholar. Conforme afirmam Pereira e Mota (2024), a revisão narrativa “possibilita integrar informações científicas recentes e contribui para a compreensão das tendências, desafios e lacunas existentes na pesquisa sobre determinados temas”.

Utilizou-se os descritores em português: “doenças raras”, “Next Generation Sequencing”, “Hipertermia Maligna”, “Galactosemia”, “diagnóstico genético” e “sequenciamento de DNA”, e em inglês: Rare diseases. Malignant hyperthermia. Galactosemia. Genetic sequencing. NGS. De acordo com Chen et al. (2021), “a utilização de múltiplos descritores e fontes científicas aumenta a abrangência e a validade de revisões de literatura voltadas à área biomédica”.

Foram incluídos artigos científicos, dissertações, teses e revisões que abordassem o uso do NGS no diagnóstico de doenças raras e estivessem disponíveis integralmente em formato digital. Excluíram-se publicações sem metodologia clara, duplicadas ou anteriores a 2010, seguindo a recomendação de Hennessy et al. (2021) de que a “seleção criteriosa de fontes é essencial para garantir a confiabilidade dos achados e a consistência metodológica das revisões acadêmicas”. Após triagem, 21 (vinte e um) artigos foram selecionados para análise dos estudos.

A análise dos dados foi realizada por meio de leitura crítica e comparativa dos materiais, buscando identificar aspectos conceituais, metodológicos e práticos da aplicação do NGS no diagnóstico clínico. Segundo Van Karnebeek et al. (2023), essa abordagem “permitiu avaliar a aplicabilidade e o impacto das tecnologias genéticas na prática médica e laboratorial, relacionando as evidências científicas à realidade dos sistemas de saúde”.

A metodologia adotada possibilitou uma compreensão ampla e crítica da

relevância do NGS sob perspectiva científica, clínica e social, conforme defendem Pereira e Mota (2024), ao ressaltarem que “a genética de nova geração representa um divisor de águas na biomedicina contemporânea”.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 DOENÇAS RARAS E DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO

Nas últimas décadas, tem-se observado um avanço significativo nas pesquisas relacionadas às doenças genéticas raras, como a Hipertermia Maligna e a Galactosemia, especialmente no que diz respeito à sua detecção e manejo clínico. A crescente atenção a essas patologias reflete a ampliação do conhecimento genético e o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas, que possibilitaram compreender melhor os mecanismos moleculares subjacentes e suas implicações clínicas. Nesse contexto, nota-se também uma evolução nas estratégias terapêuticas e na adoção de tecnologias de sequenciamento de nova geração, as quais têm contribuído para diagnósticos mais precisos e intervenções mais eficazes. A relevância e o impacto desses avanços motivaram o desenvolvimento deste estudo, que busca aprofundar a compreensão sobre o papel do NGS no diagnóstico dessas doenças raras e suas contribuições para a biomedicina contemporânea (Pereira e Mota, 2024),

Na perspectiva da fundamentação teórica, este estudo tem como objetivo revisar de forma abrangente os fundamentos moleculares e fisiológicos dos receptores de rianodina (RyRs), destacando sua importância na regulação do cálcio intracelular e sua associação direta com a Hipertermia Maligna. Paralelamente, busca-se abordar os aspectos bioquímicos e genéticos relacionados à Galactosemia, doença metabólica hereditária resultante de mutações que comprometem o metabolismo da galactose, levando ao acúmulo tóxico de galactose-1-fosfato em tecidos e órgãos. Dessa forma, propõe-se identificar e discutir os principais fatores genéticos e fisiopatológicos envolvidos em ambas as patologias, articulando o conhecimento molecular aos aspectos clínicos observados em indivíduos afetados. Assim, pretende-se oferecer uma fonte atualizada e sintetizada de informações científicas que contribua para o aprimoramento da prática biomédica e para a ampliação da compreensão interdisciplinar sobre os mecanismos etiológicos e diagnósticos dessas doenças raras (Calvo e Mootha et

al, 2020).

As doenças raras constituem um grupo de enfermidades de baixa prevalência, afetando um número reduzido de indivíduos e apresentando grande diversidade de manifestações clínicas e genéticas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) define como rara a doença que acomete até 65 pessoas a cada 100.000 habitantes, estimando-se a existência de mais de 7.000 tipos diferentes (Ministério da Saúde, 2021). De acordo com Van Karnebeek et al. (2023), “a heterogeneidade e a escassez de dados epidemiológicos tornam o diagnóstico das doenças raras um dos maiores desafios da medicina moderna”.

O atraso no diagnóstico é uma das principais barreiras enfrentadas pelos pacientes, na maioria dos casos, a definição diagnóstica pode levar anos, implicando em tratamentos inadequados e agravamento clínico. Segundo Chen et al. (2021), o tempo médio para o diagnóstico de uma doença rara pode ultrapassar cinco anos, “refletindo tanto a falta de conhecimento médico quanto as limitações das técnicas diagnósticas convencionais”.

Diante disso, o desenvolvimento de ferramentas moleculares avançadas tornou-se essencial para reduzir o tempo de identificação e aumentar a precisão dos resultados. Além dos desafios clínicos, há dificuldades estruturais e políticas que comprometem o acesso à assistência especializada. No Brasil, a falta de centros de referência e a carência de políticas públicas eficazes ainda dificultam a implementação de exames genéticos em larga escala (Ministério da Saúde, 2021).

Pereira e Mota (2024) destacam que “a democratização do acesso às tecnologias de diagnóstico é fundamental para garantir equidade e justiça no sistema de saúde”.

3.1.1 Conceitos: Hipertermia Maligna e Galactosemia

A Hipertermia Maligna (HM) é uma desordem farmacogenética potencialmente fatal. Durante uma crise de HM, os anestésicos inalatórios, os relaxantes musculares despolarizantes (succinilcolina) ou uma atividade física extrema em ambientes quentes são os gatilhos para desencadear um imenso acúmulo de cálcio (Ca^{2+}) no mioplasma, o que leva a uma aceleração do metabolismo e atividade contrátil do músculo esquelético. Esse estado

hipermetabólico gera calor e leva à hipoxemia, acidose metabólica, rabdomiólise e um rápido aumento da temperatura corporal, que pode ser fatal se não reconhecida e tratada precocemente (Pereira e Mota, 2024).

A Galactosemia, é uma doença autossômica recessiva, ocasionada pela deficiência de qualquer enzima da via de degradação da galactose no organismo e é caracterizada pelo aumento da concentração plasmática de intermediários do metabolismo da galactose (BRASIL, 2021). A galactose é um monossacáideo obtido principalmente pela alimentação, mediante o consumo de leite e derivados; uma quantidade significativa desse açúcar também pode ser encontrada em algumas frutas como figo, caqui, uvas, tomate, laranja lima e mamão (CAMPANHOLI, 2014).

3.1.2 Fisiopatologia da Hipertermia Maligna e Galactosemia

A suscetibilidade à Hipertermia Maligna é herdada, com hereditariedade autossômica dominante e penetrância variável. Com mais frequência, a mutação causativa afeta os receptores de rianodina do músculo esquelético. As estimativas da prevalência de mutações que causam suscetibilidade potencial variam de 1 em 10.000 a 1 em 2000, mas ainda não está claro como estas se traduzem em suscetibilidade clínica (Pereira e Mota, 2024).

Os mecanismos podem envolver potenciação induzida por anestésico da saída do cálcio (Ca) a partir do retículo sarcoplásmico do músculo esquelético em pacientes suscetíveis. Como resultado, as reações bioquímicas induzidas por cálcio são aceleradas, causando várias contrações musculares intensas e elevação da taxa metabólica, resultando em acidose metabólica e respiratória. Em resposta à acidose, os pacientes respirando em ar ambiente apresentam espontaneamente taquipneia cuja compensação é apenas parcial (Pereira e Mota, 2024)..

Na Galactosemia, a deficiência da enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT) promove o acúmulo do seu substrato, a galactose-1-fosfato, resultando na inibição da galactose-1-fosfato uridiltransferase e no consequente aumento dos níveis de galactose livre no organismo. A ingestão contínua de leite agrava esse quadro metabólico, favorecendo o desvio da galactose para vias metabólicas alternativas, como a redução catalisada pela aldose redutase dependente de NADPH e a oxidação mediada pela galactose desidrogenase dependente de

NADH, gerando os compostos galactitol e galactonato, respectivamente. Estudos relatam que essas substâncias estão associadas a lesões em subpopulações neuronais, como as células de Purkinje, e à degeneração da substância branca, além de a galactose livre apresentar efeito hepatotóxico (Ridel et al., 2005; Castro et al., 2016).

O galactitol, por sua vez, tem sido correlacionado ao desenvolvimento de catarata, em razão de seu efeito hiperosmótico, que provoca o inchaço das células do cristalino. Adicionalmente, a produção excessiva de galactitol consome grandes quantidades de NADPH, cofator essencial à atividade da glutathione redutase, enzima responsável pela regeneração de compostos antioxidantes celulares. A redução da disponibilidade de NADPH compromete a defesa antioxidante, favorecendo o estresse oxidativo, a lesão tecidual e, em casos mais severos, a morte celular (Coelho et al., 2017).

Em atenção a mutações isoladas nos genes envolvidos no metabolismo da galactose, a galactosemia é classificada em quatro tipos: Galactosemia tipo I ou clássica, Galactosemia tipo II, Galactosemia tipo III e Galactosemia tipo IV, conforme demonstração no **Quadro 1**.

Quadro 1 – CLASSIFICAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DAS GALACTOSEMIAS

TIPOS	GENES	SUBSTRATO AFETADO	ORIGEM	FISIOPATOLOGIA
Galactosemia tipo I (Clássica)	<i>GALT</i>	Galactose-1-fosfato	Europa Américas	Hepatomegalia, problemas gastrointestinais, icterícia, letargia, convulsões, perda de peso (Garcia, 2015; Tisa et al., 2022)
Galactosemia tipo II	<i>GALK1</i> <i>GALK2</i> HEL-S-19 GK1	α -D-Galactose	Europa Américas	Hepatomegalia, hipoglicemia, catarata precoce, déficit cognitivo, surdez, cirrose, microcefalia, convulsões, anemia, osteoporose (Garcia, 2015; Tisa et al., 2022)
Galactosemia tipo III	<i>GALE</i> TH C13 SDR1E1	UDP-Galactose	Europa Américas	Hepatomegalia, icterícia, problemas gastrointestinais, perda de peso, anemia, ascite, cirrose, osteoporose, danos hepatocelulares (Garcia, 2015; Panis et al., 2014)

Galactosemia tipo IV	GALM GLAT IBD1 GALAC4 BLOCK25 HEL-S-63p	β -D-Galactose	Ásia Japão Taiwan	Hepatomegalia, catarata precoce, problemas renais e desenvolvimento, surdez, convulsões, microcefalia, hipoglicemia, anemia, cirrose déficit cognitivo, falência hepática, letargia (Garcia, 2015; Panis et al., 2014)
-------------------------	---	----------------------	-------------------------	--

FONTE: Autoral.

As expressões fenotípicas fisiopatológicas dos quatro tipos de galactosemia são similares e antropologicamente distintas. A galactosemia de maior evidência no mundo é a Galactosemia tipo I ou clássica, tendo como registro mais de 180 mutações identificadas no gene GALT. A maioria destas alterações, reduz ou anula a atividade da enzima, propiciando algumas formas mais brandas de exposição – as chamadas galactosemias variante Duarte. Nestas mutações, se observa a troca de asparagina por ácido aspártico, sendo a mais comum, na posição 314 da proteína (Asn314Asp) (Ridel et al., 2015).

O monossacarídeo galactose é obtido principalmente pelo consumo de leite e derivados e de algumas frutas como caqui, figo, laranja lima, mamão, tomate e uvas (Camelo et al., 2011). Tem como característica ser uma aldohexose de fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$ encontrado na natureza como esteroisômero D (D-galactose) onde, em meio aquoso, assume estrutura cíclica propiciando a formação do dissacarídeo lactose através de reação de condensação que une, por meio de ligação glicosídica do tipo beta, o carbono 1 da galactose e o carbono 4 da glicose (Camelo et al., 2011; Campanholi, 2014). A hidrólise da molécula lactose ocorre no intestino delgado pela ação da enzima lactase, onde seus integrantes são absorvidos e, na corrente sanguínea, são transportados para o fígado. A glicose pode ser utilizada para geração de adenosina-trifosfato (ATP) através da glicólise ou ser armazenada sob a forma de glicogênio pela glicogênese (Campanholi, 2014). Já a galactose, no entanto, passa pelo processo de conversão em glicose-6-fosfato, envolvendo quatro enzimas no seu metabolismo **Figura 1**:

(NADPH) disponível na célula, favorecendo o estresse oxidativo que danifica diversos tecidos.

3.2 APLICAÇÕES DO NGS NAS DOENÇAS RARAS

A utilização do NGS tem revolucionado o diagnóstico das doenças raras ao permitir a detecção de mutações genéticas antes inatingíveis por métodos convencionais. Segundo Van Karnebeek et al. (2023), “o NGS elevou as taxas de diagnóstico molecular de doenças raras de 30% para mais de 60% em muitos centros especializados”. Essa mudança ampliou as possibilidades de diagnóstico precoce e tratamento direcionado. O painel multigênico e o sequenciamento de exoma são as abordagens mais empregadas na prática clínica, permitindo identificar mutações em dezenas de genes simultaneamente. Chen et al. (2021) destacam que “esses painéis são especialmente úteis para doenças de fenótipo variável, em que diferentes genes podem causar manifestações semelhantes”. Além disso, o NGS oferece suporte à pesquisa de novas variantes genéticas, contribuindo para o avanço do conhecimento sobre doenças de base hereditária.

De acordo com Hennessy et al. (2021), o NGS também desempenha papel essencial no aconselhamento genético, auxiliando famílias no planejamento reprodutivo e no monitoramento de portadores assintomáticos. Essa integração entre diagnóstico, prevenção e pesquisa reforça o valor da biomedicina na promoção de uma prática clínica mais humana e precisa. O Next Generation Sequencing (NGS), ou Sequenciamento de Nova Geração, representa uma das inovações mais significativas na genética molecular. Essa tecnologia permite o sequenciamento simultâneo de milhões de fragmentos de DNA, oferecendo uma visão detalhada do genoma humano em menor tempo e com alta precisão (Chen et al., 2021).

Conforme Hennessy et al. (2021), “o NGS superou as limitações do método de Sanger, ampliando a capacidade de detecção de mutações raras e variantes genéticas complexas”. A principal vantagem do NGS é a sua alta sensibilidade e rapidez, possibilitando identificar mutações responsáveis por doenças hereditárias com custo cada vez menor. Gill, Budd e Hughes (2021) explicam que “o NGS revolucionou a prática clínica ao permitir o estudo de múltiplos genes em um único exame, reduzindo significativamente o tempo diagnóstico”. Essa

metodologia é especialmente útil em casos de doenças raras de etiologia desconhecida, em que múltiplos genes podem estar envolvidos.

Na biomedicina, o uso do NGS expandiu-se para áreas como oncogenética, farmacogenômica e triagem neonatal, contribuindo para o desenvolvimento da medicina personalizada (Pereira e Mota, 2024). Segundo Calvo e Mootha (2020), a incorporação dessa tecnologia “transformou o diagnóstico genético em um processo mais abrangente, preciso e acessível, integrando pesquisa científica e prática clínica”.

3.3 HIPERTEMIA MALIGNA

3.3.1 Aspectos genéticos e diagnóstico

A Hipertermia Maligna (HM) é uma condição genética rara e potencialmente fatal, caracterizada por uma reação hipermetabólica do músculo esquelético em resposta a determinados anestésicos, como o halotano e a succinilcolina. As mutações associadas ocorrem, principalmente, nos genes RYR1 e CACNA1S, responsáveis pela regulação do cálcio intracelular (Ribeiro, 2023). De acordo com Gill, Budd e Hughes (2021), “essas mutações comprometem o controle da contração muscular, levando à rigidez, hipercapnia e elevação abrupta da temperatura corporal”.

O diagnóstico da HM tradicionalmente depende do teste de contratura muscular in vitro, um procedimento invasivo e de alto custo. No entanto, o uso do NGS tem se mostrado uma alternativa eficaz e menos invasiva, capaz de identificar mutações patogênicas com rapidez e precisão (Guyon et al., 2021).

Nesse sentido, Ribeiro (2023) ressalta que “a introdução do NGS no diagnóstico de Hipertermia Maligna permitiu a triagem de indivíduos suscetíveis antes da exposição a anestésicos, prevenindo complicações fatais”. Além do diagnóstico clínico, o NGS oferece suporte à prevenção e ao aconselhamento genético, permitindo identificar familiares de risco e adotar medidas profiláticas. Como destacam Pereira e Mota (2024), a aplicação do NGS em doenças farmacogenéticas representa um marco na medicina personalizada, unindo segurança, precisão e inovação.

3.4 GALACTOSEMIA

3.4.1 Diagnóstico molecular e implicações clínicas

O diagnóstico da galactosemia, conforme Bosh (2021), é complexo e desafiador e se inicia por meio da anamnese clínica seguida da avaliação de marcadores genéticos – importantes para identificar os galactosêmicos molecularmente, auxiliar na identificação genotípica materna e paterna; e de marcadores biológicos – capazes de fornecer informações sobre o estado da saúde do afetado, monitorando a evolução da doença e, conseqüentemente, avaliando a eficácia do tratamento.

Em geral, avaliam concentração de metabólicos da galactose no plasma, redução eritrocitária da atividade enzimática e executam programas de rastreamento de material neonatal. Em situações de identificação tardia da doença, complicações futuras, como a hepatite, insuficiência renal, anemia hemolítica, alterações epidérmicas, icterícias, transtornos psíquicos, insuficiência primária ovariana levando a infertilidade, podem se expressar, instalando marcadores diferenciados à rotina (Berry et al, 2017; Bosh, 2021).

3.4.1.1 Marcadores Biológicos

O teste de inibição microbiológica qualitativa de Guthrie (urina) foi o primeiro exame realizado para a detecção dos EIM galactosemia e fenilcetonúria. Posteriormente, foram inseridos vários testes diretivos à galactosemia tipo 1 ou clássica, visto ser a mais incidente no mundo, o que estabeleceu o marcador enzimático deficiência de GALT como o marcador biológico chave (Souza, 2020).

Diversos métodos analíticos podem ser empregados como marcadores para medição da atividade da enzima GALT, dentre os quais temos: Detecção espectrofotométrica de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NADH) ou NADPH; Marcação da galactose-1-fosfato com C14; dosagem de galactiol ou galactonato; dosagem de galactose no sangue; dosagem de galactose na urina; avaliação de galactose-1-fosfato nos tecidos; avaliação de lactato; dosagem da enzima transaminase glutâmico-oxalacética (TGO); dosagem da enzima transaminase glutâmico-pirúvica (TGP); dosagem de ureia; dosagem de creatinina; realização de hemograma completo; dosagem de hemoglobina; dosagem dos minerais magnésio

(Mg), ferro (Fe), cálcio (Ca); dosagem das vitaminas D, K, B9 e B12, B9; dosagem de glicemia em jejum, avaliação do hormônio luteinizante (LH), avaliação do hormônio folículo-estimulante (FSH) (Souza, 2020).

Exames de imagem como densitometria óssea, eletroencefalograma (EEG) e outros que envolvam avaliação cerebral e conexões são executados como marcadores principais para diagnóstico das galactosemias II e IV (Deng et al., 2015).

3.4.1.2 Marcadores Genéticos

Os marcadores genéticos são os principais pontos a serem levados em consideração quando se avalia a galactosemia. Segundo Berry et al (2017) e o relatório expedido pelo Ministério da Saúde (MS) em 2018, a maior representatividade nesta área, é a realização dos testes de triagem neonatal, inseridos com as nomenclaturas populares Teste do pezinho (coleta capilar do calcanhar do recém-nascido – oferecido gratuitamente pelo MS através do Sistema Único de Saúde (SUS)) e o Teste da bochechinha (coleta com swab bucal). Ambos são realizados pela análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) através de procedimentos técnicos envolvendo Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), PCR em Tempo Real (RT-PCR), PCR em Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição (PCR-RFLP) e Sequenciamento de Nova Geração (NGS). O NGS é o procedimento técnico de análise molecular mais recente, avalia todas as regiões codificantes e regiões flangeadoras adjacentes aos éxons dos 04 (quatro) genes relacionados às galactosemias: GALE, GALM, GALT e GALK1. Esta técnica permite a identificação de variantes de nucleotídeo único (SNVs), pequenas inserções e deleções (INDELS), bem como variações no número de cópias (CNVs) que compreendam três ou mais éxons dos genes estudados. É realizada análise criteriosa em busca de variantes genéticas patogênicas/provavelmente patogênicas (Bosh, 2021).

3.5 BENEFÍCIOS E LIMITAÇÕES DO USO DO NGS

Embora o NGS represente um dos maiores avanços da biomedicina moderna, sua implementação ainda enfrenta desafios, principalmente em países em

desenvolvimento os altos custos dos reagentes, a necessidade de infraestrutura laboratorial especializada e a carência de profissionais capacitados são barreiras significativas (Ministério da Saúde, 2021). Calvo e Mootha (2020) observam que “a sustentabilidade do uso do NGS depende do investimento contínuo em capacitação técnica e políticas públicas voltadas à inovação”. Por outro lado, os benefícios são amplos e inegáveis. O NGS proporciona diagnósticos rápidos, seguros e abrangentes, possibilitando o início precoce do tratamento e a redução das taxas de mortalidade associadas às doenças raras (Chen et al., 2021).

Conforme Pereira e Mota (2024), “a consolidação dessa tecnologia é essencial para o fortalecimento da medicina de precisão e para o avanço do conhecimento biomédico”. Nesse sentido, a democratização do acesso ao NGS é um passo essencial para que a biomedicina brasileira avance em direção a uma prática mais humanizada e baseada em evidências científicas. Desse modo, Hennessy et al. (2021) concluem que “a integração do NGS nos sistemas de saúde é fundamental para promover equidade diagnóstica e melhorar a qualidade de vida dos pacientes com doenças raras”.

Embora o NGS represente um avanço expressivo na genética molecular, sua implementação ainda enfrenta desafios no Brasil. O principal obstáculo é o alto custo dos equipamentos, reagentes e softwares de bioinformática, além da necessidade de profissionais especializados para análise e interpretação dos dados. Nesse sentido, outras limitações incluem a infraestrutura laboratorial insuficiente e a falta de políticas públicas que garantam o acesso equitativo à tecnologia. Apesar disso, os benefícios são inegáveis: diagnósticos mais rápidos, condutas clínicas mais assertivas, prevenção de riscos e ampliação do conhecimento científico sobre as doenças raras (Pereira e Mota, 2024).

A democratização do acesso ao NGS é fundamental para o fortalecimento da medicina de precisão e para a consolidação de uma abordagem mais humanizada e eficiente no atendimento aos pacientes portadores de doenças genéticas (Pereira e Mota, 2024).

No Brasil, programas para doenças raras são oferecidos pelo SUS, através de uma Rede Especializada e da Linha de Cuidado para Pessoas com Condições Raras, que visa a organização do fluxo assistencial. Outras iniciativas importantes incluem programas de capacitação, o apoio do MS no fornecimento de

medicamentos e a atuação de organizações não governamentais como o Instituto Unidos pela Vida e a Casa Hunter, que promovem diagnóstico, tratamento e apoio a pacientes e famílias (Pereira e Mota, 2024).

3.6. A TECNOLOGIA DE NGS

O NGS representa uma das inovações mais significativas na genética molecular. Essa tecnologia permite o sequenciamento simultâneo de milhões de fragmentos de DNA, oferecendo uma visão detalhada do genoma humano em menor tempo e com alta precisão (Chen et al., 2021). Conforme Hennessy et al. (2021), “o NGS superou as limitações do método de Sanger, ampliando a capacidade de detecção de mutações raras e variantes genéticas complexas”. A principal vantagem do NGS é sua alta sensibilidade e rapidez, possibilitando identificar mutações responsáveis por doenças hereditárias com custo cada vez menor. Gill, Budd e Hughes (2021) explicam que “o NGS revolucionou a prática clínica ao permitir o estudo de múltiplos genes em um único exame, reduzindo significativamente o tempo diagnóstico”.

Essa metodologia é especialmente útil em casos de doenças raras de etiologia desconhecida, em que múltiplos genes podem estar envolvidos. Na biomedicina, o uso do NGS expandiu-se para áreas como oncogenética, farmacogenômica e triagem neonatal, contribuindo para o desenvolvimento da medicina personalizada (Pereira & Mota, 2024).

Segundo Calvo e Mootha (2020), a incorporação dessa tecnologia “transformou o diagnóstico genético em um processo mais abrangente, preciso e acessível, integrando pesquisa científica e prática clínica”.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou a relevância da tecnologia do NGS como ferramenta indispensável no diagnóstico das doenças raras, em especial da Hipertermia Maligna e da Galactosemia. Observou-se que o NGS proporciona resultados rápidos, precisos e abrangentes, permitindo identificar mutações genéticas com maior eficiência do que os métodos tradicionais. Porém, a Hipertermia Maligna, de origem farmacogenética, e a Galactosemia, decorrente de

erros inatos do metabolismo, são exemplos de doenças que podem ter sua detecção e manejo clínico otimizados por meio dessa tecnologia.

O estudo pôde observar que a utilização do NGS reduz o tempo diagnóstico, melhora a conduta terapêutica e contribui para o aconselhamento genético, beneficiando tanto os pacientes, quanto os profissionais de saúde.

No entanto, apesar dos avanços significativos, ainda existem barreiras para a ampla implementação do NGS no Brasil, como o custo elevado, a necessidade de infraestrutura adequada e a capacitação técnica dos profissionais.

Entretanto, com o progresso científico e o investimento em políticas públicas voltadas à inovação, espera-se que essa tecnologia se torne cada vez mais acessível, permitindo diagnósticos mais equitativos e o fortalecimento da medicina personalizada, pois, dessa forma, conclui-se que o NGS representa uma revolução no campo da genética molecular e da biomedicina, sendo uma ferramenta essencial para o diagnóstico precoce e eficaz das doenças raras. Sua incorporação nos programas de triagem e nos serviços de saúde é fundamental para promover avanços na pesquisa, no tratamento e na qualidade de vida dos pacientes afetados por essas condições. Sendo assim, se faz necessário novas pesquisas sobre o assunto.

5 REFERÊNCIAS

BERRY GT, ADAM MP, FELDMAN J, MIRZAA GM *et al.* Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2017;12(1):1993-2024.

BOSH MA. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis* . 2021 Aug;29(4):516-25.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Raras: Diretrizes e Estratégias para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no SUS. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude>. Acesso em: 6 out. 2025.

CALVO, S. E.; MOOTHA, V. K. The mitochondrial proteome and human disease.

Annual Review of Genomics and Human Genetics, v. 11, p. 25–44, 2020.

CAMELO JÚNIOR JS, FERNANDES MIM, JORGE SM, MACIEL SMZ *et al.* Avaliação econômica em saúde: triagem neonatal da galactosemia. Cadernos de Saúde Pública. 2011;27(1):666-76.

CAMPANHOLI, D. R. R. Oxidação da galactose utilizando ^{13}C em crianças saudáveis e galactosêmicas. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

CASTRO, M. B. *et al.* Evidence of oxidative stress in brain and liver of young rats submitted to experimental galactosemia. Metabolic brain disease, v. 31, n. 6, p. 1381-1390, 2016.

CHEN, W. *et al.* Next Generation Sequencing in Rare Genetic Disorders: A New Era for Diagnosis. Frontiers in Genetics, v. 12, n. 630, p. 1–10, 2021.

COELHO, A. I. *et al.* Sweet and sour: an update on classic galactosemia. Journal of inherited metabolic disease, v. 40, n. 3, p. 325-342, 2017.

DENG Y, MISSELWITZ B, DAI N, RAPOSA M. Lactose intolerance in adults: biological mechanism and food management. Nutrients. 2015;7(9):8020-35.

GARCIA DF. Análise do perfil genotípico de pacientes com galactosemia clássica e estudo da relação do genótipo com o fenótipo. Tese Doutorado. Ribeirão Preto. 2015:1-119.

GILL, D.; BUDD, R.; HUGHES, J. Malignant Hyperthermia: Genetic Basis and Diagnostic Advances. British Journal of Anaesthesia, v. 127, n. 4, p. 623–633, 2021.

GUYON, T. *et al.* Genetic testing and diagnosis of malignant hyperthermia susceptibility: An update. European Journal of Human Genetics, v. 29, n. 8, p. 1231–1242, 2021.

HENNESSY, C. L. et al. Clinical utility of next-generation sequencing for the diagnosis of rare metabolic disorders. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 44, n. 2, p. 478–489, 2021.

PANIS B, FORGET PH, VAN KROONENBURGH MJPG, VERMEER C *et al.* Bone metabolism in galactosemia *Bone*. 2014 Oct;35(4):982-7.

PEREIRA, R. R.; MOTA, I. C. S. Avanços do sequenciamento genético de nova geração no diagnóstico de doenças raras. *Revista Brasileira de Biomedicina*, v. 15, n. 2, p. 112–125, 2024.

RIBEIRO, A. S. Hipertermia Maligna: Aspectos clínicos e genéticos na prática anestésica. *Revista de Anestesiologia Brasileira*, v. 72, n. 3, p. 150–158, 2023.

RIDEL, K. R.; LESLIE, N. D.; GILBERT, D. L. An updated review of the long-term neurological effects of galactosemia. *Pediatric neurology*, v. 33, n. 3, p. 153-161, 2015.

SOUZA C.F.M., SWARTZ I.V., GIUGLIANI R. Triagem neonatal de distúrbios metabólicos. *Ciênc. saúde coletiva*. 2020;7(1):1-10.

TISA TI, ACHIM S, PETRUT A.C The Importance of Neonatal Screening for Galactosemia Nutrients. 2022 Dec 20;15(1):102.

VAN KARNEBEEK, C. D. M. et al. The Role of Newborn Screening in Rare Genetic Diseases: Perspectives from Next-Generation Sequencing. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, v. 18, n. 101, p. 1–14, 2023.

