(LMA), a alta dependência da glicólise e da fosforilação oxidativa (OXPHOS) está frequentemente associada a prognósticos ruins, e a inibição do metabolismo mitocondrial demonstrou ser uma oportunidade terapêutica. A mutação FLT3-ITD desvia o metabolismo da glicose para o ciclo de Krebs. A via da insulina, composta pelo receptor de insulina (INSR), pelo receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1R) e pelos substratos do receptor de insulina (IRS1-4), é ativada pelo IGF1 e pelo IGF2. A via da insulina regula as vias PI3K-AKT-mTOR, RAS-RAF-MEK-ERK e MAPK, que promovem a proliferação, a captação de glicose e a evasão da apoptose. **Objetivos:** O objetivo deste estudo foi investigar e comparar a expressão gênica dos componentes da via de insulina em LMA e os efeitos dos inibidores IGF1R-IRS1/2 e FLT3 em neoplasias mieloides com mutações FLT3. **Material e métodos:** Foram empregadas análises *in silico* (The Humam Protein Atlas para análise da expressão dos alvos pelos tecidos, TCGA para análise de expressão gênica dos pacientes de LMAvsNormal e DepMap para análise do score de dependência das linhagens de LMA), além de ensaios *in vitro*, como viabilidade (MTT), Apoptose (Annexin V/PI), e Proliferação (Ki67). **Resultados:** A análise do transcriptoma de diferentes tecidos humanos, do The Humam Protein Atlas, revelou que IRS2 é mais expresso na medula óssea do que em outros tecidos, enquanto não foi observado expressão gênica diferencial do IGF1R e do IRS1 entre a medula óssea e os demais tecidos. Em uma coorte do TCGA, foi observado elevada expressão dos genes da via da insulina em amostras de LMA em comparação com células normais da medula óssea ($p < 0,05$), e relevância biológica (calculado pelo dependence score) dos genes da via de insulina em linhagens de LMA FLT3-ITD. Em linhagens MOLM-13 e MV4-11, ambas FLT3- ITD, o tratamento com os inibidores de IGF1R-IRS1/2, Linsitinib e NT-157, como monoterapia reduziu a viabilidade celular (MTT) de maneira dose e tempo- dependentes (com IC50 de 42.09 e 20.04 nM [PKC], 0.86 e 0.49 nM [AC220], 8.82 e 8.81 μM [Linsitinib], 2.44 e 2.40 μM [NT-157] para a linhagem MV4;11 e MOLM-13 respectivamente); aumentou a apoptose (Annexin-V/PI) em 24h para a MOLM-13 nas maiores doses dos inibidores enquanto para a MV4;11 apenas com 0.8μM de NT-157. Em 48h ambas as linhagens sofreram apoptose dose-dependente com efeitos mais proeminentes do Linsitinib (20 μM) na MV4;11 e do NT-157 (0.8 μM) na MOLM-13. Todos os inibidores diminuíram a proliferação celular (Ki67), com efeitos mais drásticos associados aos inibidores de FLT3 e o Linsitinib (10 e 20 μM), e apenas nas doses mais altas do NT-157 (0.8 μM). O tratamento combinado de inibidores de FLT3 (FLT3i) (PKC [midostaurim] e AC220 [quizartinibe]) com os inibidores Linsitinib e NT-157 resultou em um efeito aditivo entre PKC-Linsitinib, PKC-NT157 e AC220-Linsitinib em ambas as linhas celulares (MOLM-13 e MV4; 11) e um efeito sinérgico entre AC220-NT157 (pontuação ZIP de 11,61) após 48 horas de tratamento. **Discussão e conclusão:** Em conjunto, essas descobertas sugerem que a inibição do eixo IGF1R-IRS1/2, em monoterapia ou em combinação com inibidores de FLT3, poderia representar um tratamento alternativo para pacientes com LMA.

https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104555

ID - 3018

INTEGRAÇÃO DA ESTRATIFICAÇÃO MOLECULAR NA LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA RECÉM DIAGNOSTICADA: USO DE FLAG-IDA + GENTUZUMABE OZAGAMICINA PARA OTIMIZAÇÃO DA RESPOSTA EM MUTAÇÕES NPM1 E FLT3-ITD

DFC Neto, MP Luizon, CP Oliveira, EJW Franco, MM Paulo, LWC Branco, MRL Perugini, LGR Barbosa, ER Mattos

Hospital Amaral Carvalho (HAC), Jaú, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia decorrente de um distúrbio proliferativo clonal de precursores imaturos mieloides da medula óssea (MO). Sua incidência aumenta com a idade com pico em torno dos 60 anos. O diagnóstico é feito por meio da identificação de blastos (20% ou mais) no sangue periférico ou MO, na presença de mutações associadas à mielodisplasia o mutação de TP53 quando blastos entre 10-19%. Após o diagnóstico, é fundamental a estratificação de risco, que é feita por estudo genético e molecular, impactando na decisão terapêutica prognóstico clínico. **Descrição do caso:** L.L.F., feminina, 39 anos, previamente hígida. Há 3 meses iniciou fadiga com piora progressiva associada à pancitopenia. Mielograma com infiltrado por blastos (40% da celularidade total), imunofenotipagem da MO compatível com LMA sem maturação. Iniciada quimioterapia (QT) intensiva: protocolo 7 + 3, coletados painel de mutações mieloides - NGS e cariótipo par estratificação prognóstica. Diante de resultado parcial de NGS com presença de mutação FLT3-ITD, foi classificada como risco intermediário e associada Midostaurina à 1ª indução, com remissão completa (RC) ao término. Só então foi liberado resultado final de NGS: mutações FLT3-ITL NPM1, NRAS; cariótipo 46XX. Diante desses resultados, foi realizada 2ª indução com esquema FLAG-Ida e Gemtuzumabe Ozogamicina (GO), apresentando RC na avaliação de doença residual mensurável (DRM) e pesquisa de mutação do gene FLT3 por PCR não detectada. Em seguida, submetida a 2 ciclos de consolidação com Citarabina, mantendo RC com DRM negativa, em seguimento ambulatorial e monitorização molecular trimestral, não indicado transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). **Conclusão:** Pacientes portadores de LMA e idade inferior a 50 anos, independentemente do risco citogenético, recebem QT de indução com protocolo 7 + 3, como realizado nesse caso. Após identificada a presença de mutação FLT3-ITD, foi associada Midostaurina ao esquema terapêutico, de acordo com o estudo Ratify, que mostrou que essa associação possibilita aumento de sobrevida. Assim sendo, a programação inicial seria QT intensiva, avaliação de TCTH e manutenção com Midostaurina por 12 meses, tratamento mais prolongado e intenso. Todavia, com resultado final de NGS, foi constatada mutação de bom prognóstico (NPM1), superando os efeitos de mau prognóstico das outras mutações, o que possibilitou intensificar QT na indução, conforme descrito em literatura. Diante disso, foi possível modificar protocolo quimioterápico da 2ª indução para FLAG-Ida e GO, além de 2 ciclos de

consolidação com Citarabina, resultando em menor tempo de tratamento. Conforme literatura atualizada, pacientes com mutação NPM1 tratados com FLAG-Ida e GO tiveram resposta mais rápida e profunda, além de maior sobrevida livre de progressão e menor risco de recidiva, independente da mutação FLT3. Além disso, esse esquema terapêutico está associado a níveis menores de DRM, possibilitando redução na indicação de TCTH. Todavia, no Brasil o resultado de NGS demanda maior tempo para liberação, o que impossibilitou início de QT de indução com FLAG-Ida e GO, como preconizado. O caso relatado demonstra a importância do estudo citogenético e molecular para escolha do regime de quimioterapia de indução e programação do tratamento. O atraso no acesso aos resultados pode implicar tratamento mais prolongados e intensivos, que demandam indicação de TCTH.

https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104556

ID - 2557

INTEGRATION OF SINGLE-CELL RNA SEQUENCING AND MACHINE LEARNING MODELING IN THE IDENTIFICATION OF STEMNESS FEATURES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS

FAB Perez, TM Malta

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introduction: Human hematopoiesis is a dynamic process initiated during embryonic development in distinct anatomical niches, culminating in the formation of hematopoietic stem cells (HSCs), responsible for lifelong blood cell production. With aging, HSCs undergo functional decline, contributing to hematological disorders such as acute myeloid leukemia (AML). In these conditions, altered stem cells may drive disease progression and resist treatment. Advances in single-cell transcriptomics (scRNA-seq) have enabled high-resolution analysis of cellular heterogeneity in both healthy and diseased tissues. To manage the complexity of such data, machine learning (ML) algorithms have been increasingly employed to uncover gene expression patterns, differentiation states, and pathological features. These models outperform traditional marker-based methods by classifying cell types, estimating dedifferentiation levels, and detecting resistant subpopulations. In this context, algorithms such as One-Class Logistic Regression (OCLR) and decision tree-based methods have shown promise in identifying molecular stem cell signatures across biological settings. Once trained, these models can be applied to new datasets to recognize cells with similar profiles, aiding in the functional annotation of both normal and malignant samples. **Objectives:** The aim of this study was to train machine learning models on public bone marrow scRNA-seq datasets to identify cells with a stemness profile, apply these models to transcriptomic data to classify samples, and evaluate their clinical impact. **Material and methods:** ML models including OCLR, Random Forest, and linear-kernel Support Vector Machine (SVM), were used to train classifiers on public bone marrow scRNA-seq datasets. The models were applied using Spearman correlation on normalized and scaled raw counts from transcriptomic data of the TCGA AML cohort (n = 151) and two public cohorts with healthy samples (n = 101). A z-score was calculated as: z = sample score − mean (healthy)/ SD (healthy). Scores above 1.96 were considered indicative of high stemness. Hazard ratios were calculated using Cox proportional hazards models. **Results:** All models achieved comparable performance in metrics such as AUC and accuracy, with Random Forest showing higher Area Under Precision Recall Curve (AUPRC) in external validation and statistically outperforming SVM (p = 0.0380, Nemenyi post-test). Survival analysis revealed that the Random Forest model was significantly associated with overall survival. Patients in the high-stemness group (z-score > 1.96) had a hazard ratio (HR) of 1.73 (95% CI: 1.03−2.89, Logrank p value = 0.0344) compared to the low-stemness group. The median survival was 0.75 years for the high group and 1.59 years for the low group. In contrast, no significant association was observed for the OCLR (HR = 1.02, 95% CI: 0.59 −1.76, p = 0.922) or SVM (HR = 1.15, 95% CI: 0.66−2.02, p = 0.600) models. **Discussion and conclusion:** In conclusion, although all models demonstrated similar discriminative performance, the Random Forest approach not only achieved superior AUPRC in external validation but also showed a significant prognostic association with overall survival. These findings suggest that, among the tested stemness scoring methods, the Random Forest−derived HSCsi model may provide greater clinical utility by integrating predictive accuracy with prognostic relevance. **Funding:** This work was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Brazil.

https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104557

ID - 808

INTESTINAL PRIMARY MYELOID SARCOMA AS AN ISOLATED PRESENTATION WITHOUT BONE MARROW INVOLVEMENT: CASE REPORT AND NARRATIVE REVIEW.

LM Brandão, JA Balthazar, NM Santana, MDL Garcia, GA Peruzini, B Aires, BB Cal, AGO Braga, JC Amarante, MDM Nascimento, JS Filho

A.C.Camargo Câncer Center, São Paulo, Brazil

Introduction: Myeloid sarcoma (MS) is a rare extramedullary manifestation of immature myeloid cell proliferation, and its occurrence preceding acute myeloid leukemia (AML) is uncommon. MS can affect several organs and tissues, as the infiltration of gastrointestinal (GI) tract being particularly rare. A standard treatment for isolated MS has not yet been established; however, due to the high risk of progression to AML, intensive chemotherapy is generally recommended and may be combined with allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT), radiotherapy (RDT), and surgery. Therefore, this study aims to report a case of an isolated MS and compare it