

# Mantle Hücreli Lenfomada İmmüfenotipik Değerlendirme ve Klinik Davranışa Etkileri: Tek Merkezli Retrospektif Çalışma

## Immunophenotypic Evaluation and its Clinical Behavior in Mantle Cell Lymphoma: A Single-Center Retrospective Study

Damla Çağla PATIR<sup>1</sup>, Mehmet SOYLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Mantle hücreli lenfoma (MHL), agresif bir B hücreli non-Hodgkin lenfomadır ve immüfenotipik varyasyonlar nedeniyle tanısız zorluklar sunan heterojen bir klinik seyre sahiptir. Bu pilot nitelikteki çalışma, tanı anındaki akış sitometrik immüfenotipe dayalı, yeni bir 6 parametrelilik skorlama sistemi geliştirmeyi ve bu sistemin klinik sonuçlarla ilişkisini öncül düzeyde değerlendirmeyi amaçlamıştır.

**Hastalar ve Yöntem:** Histopatolojik olarak doğrulanmış 23 MHL hastasından elde edilen veriler retrospektif olarak analiz edilmiştir. Geliştirdiğimiz skorlama sistemi, aşağıdaki kriterlerin her birinin varlığı için birer puan atamıştır: CD5  $\geq$ 20%, CD23  $<$ 20%, CD20  $\geq$ 60%, CD22  $\geq$ 60%, CD79b  $\geq$ 60% ve FMC7  $\geq$ 20%. Skor ile klinik/laboratuvar değişkenleri arasındaki ilişkiyi analiz etmek için Spearman korelasyonu kullanılmış ve sistemin prediktif gücünü değerlendirmek için alıcı işletim karakteristiği (ROC) eğrisi analizi yapılmıştır.

**Bulgular:** Skor ile tedavi yanıtı arasında orta düzeyde negatif korelasyon ( $r = -0.41$ ) ve nüks süresi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon ( $r = 0.31$ ) saptanmıştır. Nükseden/refrakter seyir gösteren hastaları ayırt etme kapasitesini değerlendirmek amacıyla yapılan ROC analizi sonucunda, eğri altındaki alan (AUC) 0.79 (%95 güven aralığı: 0.59-0.94) olarak hesaplanmıştır. Youden indeksi analizi temelinde, nüks riskini tanımlamada en uygun kesme noktası (optimal cut-off) skorun  $\leq 4$  olduğu durumlar olarak belirlenmiştir (%62.5 duyarlılık, %85.7 özgüllük).

**Sonuç:** Geliştirilen 6 parametrelilik skorlama sistemi, tanısız standardizasyona katkı sunmanın yanı sıra, MHL hastalarında nüks riskini öngörmeye dikkate değer bir eğilim sergilemektedir. Mevcut pilot bulguların prognostik geçerliliği, daha geniş kohortlarda yapılacak validasyon çalışmaları ile desteklenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Mantle hücreli lenfoma; immüfenotip; prognostik belirteç; akım sitometri

### ABSTRACT

**Objective:** Mantle cell lymphoma (MCL) is an aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma with a heterogeneous clinical course that presents diagnostic challenges due to immunophenotypic variations. This pilot study aimed to develop a novel 6-parameter scoring system based on the flow cytometric immunophenotype at diagnosis and to evaluate its association with clinical outcomes at a preliminary level.

**Patients and Methods:** We retrospectively analyzed data from 23 histopathologically confirmed MCL patients. Our scoring system assigned one point for the presence of each of the following criteria: CD5  $\geq$ 20%, CD23  $<$ 20%, CD20  $\geq$ 60%, CD22  $\geq$ 60%, CD79b  $\geq$ 60%, and FMC7  $\geq$ 20%. We used Spearman's correlation to analyze the relationship between the score and clinical/laboratory variables and performed a receiver operating characteristic (ROC) curve analysis to assess its predictive power.

**Makale atfı:** Patir DÇ, Soyulu M. Mantle hücreli lenfomada immüfenotipik değerlendirme ve klinik davranışa etkileri: Tek merkezli retrospektif çalışma. LLM Dergi 2026;10(1):10-17.

### Yazışma Adresi

Damla Çağla PATIR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

**Geliş:** 08.12.2025 - **Kabul:** 17.04.2026

**E-posta:** damlapatir@yahoo.com

**Results:** A moderate negative correlation ( $r = -0.41$ ) was observed between the score and treatment response, and a moderate positive correlation ( $r = 0.31$ ) was found with time to relapse. ROC analysis performed to evaluate the capacity to discriminate relapsed/refractory patients yielded an area under the curve (AUC) of 0.79 (95% confidence interval: 0.59-0.94). Based on the Youden index, the optimal cut-off for identifying relapse risk was determined as a score of  $\leq 4$  (62.5% sensitivity, 85.7% specificity).

**Conclusion:** Beyond its utility in diagnostic standardization, the proposed 6-parameter scoring system exhibits a notable trend in predicting the risk of relapse in MCL patients. The prognostic significance of these pilot findings warrants further validation in larger, prospective cohorts.

**Key Words:** Mantle cell lymphoma; immunophenotyping; prognostic marker; flow cytometry

## GİRİŞ

Mantle hücreli lenfoma (MHL), tüm B hücreli non-Hodgkin lenfoma vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturan agresif lenfoma türüdür (1). Hastalığın ayırt edici genetik özelliği, siklin D1 geninin aşırı ekspresyonuna neden olan t(11;14)(q13;q32) kromozomal translokasyonudur (1). Özellikle indolent formlarında heterojen klinik seyri nedeniyle MHL, tanısız zorluklar yaratabilir ve sıklıkla kronik lenfositik lösemi (KLL) gibi diğer lenfoproliferatif durumlarla karışabilir (2).

Akım sitometrisi (AS), MHL'yi diğer B hücreli malignitelere ayırmada kritik bir araçtır. Mantle hücreli lenfomanın klasik immünofenotipi; pozitif CD5, CD20, FMC7 ve yüksek yüzey immünooglobulin ekspresyonu ile birlikte negatif CD23 ekspresyonu ile tanımlanırken, literatürde çeşitli immünofenotipik profiller belgelenmiştir. CD23 pozitif, CD10 pozitif veya CD5 negatif MHL gibi bu varyantlar, tanısız belirsizliğe yol açabilmektedir (2).

Bu çalışmanın temel amacı, MHL hastalarının tanı anındaki akım sitometrik immünofenotipinin kapsamlı bir değerlendirmesini yapmaktır. Bu özelliklerin hastalık alt tipi, evre, Mantle Hücreli Lenfoma Uluslararası Prognostik İndeksi (MIPI), tedavi yanıtı, sağkalım ve nüks oranları gibi çeşitli klinik faktörlerle nasıl bağlantılı olduğunu retrospektif olarak analiz ettik. Spesifik amacımız, klasik immünofenotipten sapan vakalarda klinik davranışını nasıl farklılaştığını açıklığa kavuşturmak ve böylece daha kesin tanısız ve prognostik kararlara katkıda bulunmaktır.

## HASTALAR ve YÖNTEM

### Hastalar

Bu retrospektif çalışma için, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bölümünde 1 Mart 2020-1 Mart 2025 tarihleri arasında MHL tanısı almış 23 hastanın AS sonuçlarını analiz ettik. Tüm AS analizleri, herhangi bir tedaviye başlanmadan önce tanı anında gerçekleştirildi.

Mantle hücreli lenfoma tanısı, tüm vakalarda kemik iliği biyopsi materyallerinin histopatolojik incelemesi ile doğrulandı. Ayrıca parafin blokların immünohistokimyasal analizi yoluyla siklin D1 pozitifliğinin gösterilmesiyle de tanı teyit edildi. Karakteristik t(11;14)(q13;q32) translokasyonunu saptamak için, tanı anında tüm hastaların periferik kan örneklerinde floresan in situ hibridizasyon (FISH) testi uygulandı. Tedavi yanıtları ve nüks tanımları, uluslararası kabul görmüş

Lugano Sınıflaması kriterlerine göre standardize edilerek değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda; pozitron emisyon tomografisi/bilgisayarlı tomografi (PET-BT), diagnostik BT ve klinik bulgular eşliğinde tüm hastalarda tedavi sonu yanıt oranları ve takip süresindeki nüks durumları belirlenmiştir (3). Çalışma verileri, arşivlenmiş dijital AS analiz raporlarından ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AS Laboratuvarından alınan hasta takip dosyalarından elde edildi.

### Akım Sitometri Metodolojisi

Akım sitometri analizleri, periferik kan veya kemik iliği örneklerinden elde edilen hücre süspansiyonları üzerinde gerçekleştirildi. Tüm örnekler, herhangi bir tedaviye başlanmadan önce tanı anında toplandı. Analizler, 10 renkli ve 3 lazer teknolojisine sahip bir Beckman Coulter Navios EX sitometresi (Beckman Coulter, Brea, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Birincil antijen panelimiz şunları içeriyordu: CD19 (ECD, klon: J3-119), CD20 (PB, klon: B9E9), CD22 (A700, klon: SJ10.1H11), CD23 (APC-A750, klon: 9P25), CD5 (PC5.5, klon: BL1a), FMC7 (PB, klon: FMC7), CD43 (FITC, klon: DF1), CD10 (PC7, klon: ALB1) ve ayrıca poliklonal kapp (FITC) ve lambda (PE) yüzey immünooglobulinleri. Tüm testlerde karşılık gelen izotip kontrolleri kullanıldı.

Örnekler, yüzey antikorları ile oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Ardından eritrosit lizisi için bir VersaLyse çözeltisi (Beckman Coulter, Brea, CA, ABD) eklendi ve karanlıkta 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Dikkate değer olarak, herhangi bir fiksasyon veya permeabilizasyon adımı uygulanmadı ve örnekler yıkama adımı olmadan analiz edildi. Tüp başına ortalama 25.000 lenfosit toplandı ve veriler Kaluza Analiz Yazılımı (Beckman Coulter) kullanılarak analiz edildi.

Hücre popülasyonu tanımlaması için, öncelikle lenfosit popülasyonunu seçmek amacıyla bir CD45 ve yan saçılım (SSC) grafiği kullanıldı. Daha sonra, CD19 pozitif hücreleri izole etmek için bu lenfositlere bir SSC-CD19 nokta grafiği kullanılarak ikinci bir geçit uygulandı. Bu çalışmada bildirilen tüm immünofenotipik yüzdeler, yalnızca bu standardize edilmiş CD19-pozitif lenfosit popülasyonuna dayanmaktadır.

Floresan yoğunlukları, 100-101 zayıf pozitif sinyali, 101-102 orta düzeyde pozitif sinyali ve >102 parlak pozitif sinyali temsil edecek şekilde logaritmik bir ölçekte ölçüldü. Bu değerlendirme, her bir belirteç için referans izotip kontrolleri ile birlikte gerçekleştirildi ve pozitiflik hem histogram hem de nokta grafiği analizleri yoluyla doğrulandı.

### Tanısal Skorlama Yaklaşımı

Bu çalışmada, MHL tanısını standardize etmek ve immüfenotipik yoğunluğun klinik seyirle ilişkisini değerlendirmek amacıyla 6 parametrelilik bir skorlama sistemi geliştirilmiştir. Bu modelin temel yaklaşımı, Keklik ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada önerilen parametreler üzerine kurgulanmıştır; ancak çalışmamızın odak noktasına uygun olarak genişletilmiştir (4). Geliştirilen sistemde; CD5  $\geq$ %20, CD23  $<$ %20, CD20  $\geq$ %60, CD22  $\geq$ %60, CD79b  $\geq$ %60 ve FMC7  $\geq$ %20 varlığı için birer puan atanmış ve toplam skor 0 ile 6 arasında yapılandırılmıştır. Skorlama sistemindeki eşik değerlerin belirlenmesinde literatür standartları ve kohort verileri esas alınmıştır. CD5, CD23 ve FMC7 için kullanılan %20 eşik değeri, B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların ayırıcı tanısında literatürde kabul görmüş standartlara dayanmaktadır (5). Bu parametreler arasında FMC7, özellikle KLL gibi benzer fenotipli hastalıklardan ayırmada sağladığı yüksek spesifite nedeniyle skorlama modeline dahil edilmiştir (5,6). CD20, CD22 ve CD79b için kullanılan %60 eşik değeri, MHL vakalarında karakteristik olan "parlak (bright)" ekspresyon paternini tanımlamak ve tanısal özgüllüğü artırmak amacıyla, kohortumuzun medyan değerleri ve alıcı işletim karakteristiği (ROC) optimizasyonu ışığında saptanmıştır.

Çalışma popülasyonumuzdaki tüm hastalar yüzey immünglobulin (yIg) kappa veya lambda monoklonalitesi sergilediği için, klasik skorlamalarda yer alan "klonalite" kriteri tüm hastalarda pozitif kabul edilmiş ve değişkenlik yaratmadığı için puanlamaya dahil edilmemiştir. Her bir kriter için 1 puanlık değerlendirmeye dayanarak, hastalar toplam skorlarına göre üç kategoriye ayrılmıştır: 0-2 puana sahip olanlar "düşük uyumlu", 3-4 puan alanlar "orta uyumlu" ve 5-6 puan alanlar "yüksek uyumlu (klasik fenotip)" olarak sınıflandırılmıştır.

Çalışma, Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür. Çalışma için etik onay, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 08/05/2025 tarihinde, 25-ST/26 onay numarası ile verilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Veriler, IBM SPSS Statistics for Windows, Sürüm 25.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) ve Python programlama dili (v3.11) kullanılarak analiz edildi. Python ortamında, analiz ve görselleştirme için pandas, scipy, matplotlib, seaborn ve scikit-learn kütüphaneleri kullanıldı. Sınırlı örneklem büyüklüğü ve grup içi varyasyonların heterojenliği göz önüne alındığında, tüm istatistiksel karşılaştırmalar için non-parametrik yöntemler kullanılmıştır. Çalışma, retrospektif ve sabit örneklemli bir tasarıma sahip olduğundan, örneklem büyüklüğü üzerinde bir ön belirleme (a priori güç analizi) yapılması teknik olarak mümkün olmamıştır. Mevcut örneklem büyüklüğü (n= 23) dahilinde, istatistiksel analizlerin duyarlılığı temel olarak büyük etki büyüklüklerini saptamaya

odaklanmıştır. Bu metodolojik kısıtlılık nedeniyle, istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmayan bulgular; mutlak bir etki yokluğundan ziyade, kısıtlı örnekleme bağlı istatistiksel güç yetersizliği (Tip 2 hata riski) çerçevesinde, pilot çalışma disipliniyle yorumlanmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılımı resmi olarak test edilmemiş ve doğrudan sıralama tabanlı analiz yöntemleri kullanılmıştır.

Yeni geliştirilen 6 parametrelilik immüfenotipik skorlama sistemi (FMC7 dahil) ile çeşitli klinik ve laboratuvar parametreleri [Laktat dehidrogenaz (LDH), trombosit sayısı, hemoglobin, lenfosit sayısı, albümin, nüks süresi, MIPI skoru, tedavi yanıtı ve cinsiyet] arasındaki ilişki Spearman sıra korelasyon analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, skorlama sisteminin nükseden/refrakter hastaları ayırt etme yeteneğini değerlendirmek için bir ROC eğrisi analizi gerçekleştirilmiş ve eğri altındaki alan (AUC) hesaplanmıştır. Bu analizde, nüks veya refrakter yanıt gelişimi ikili kategorik bağımlı değişken olarak kodlanmıştır.

İkili kategorik gruplar arasındaki skorlama düzeylerini karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sürekli değişkenler, dağılım özelliklerine bağlı olarak ortalama  $\pm$  standart sapma veya medyan ve çeyrekler arası aralık (%25-%75 persentil) olarak özetlenmiştir. Kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) olarak sunulmuştur. Tüm analizler için  $<$ 0.05 p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### BULGULAR

Bu retrospektif çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalında 1 Mart 2020-1 Mart 2025 tarihleri arasında tedavi edilen, histopatolojik olarak doğrulanmış 23 MHL vakasını analiz etmiştir. Hasta kohortu, ortalama tanı yaşı  $64.7 \pm 12.2$  olan, ağırlıklı olarak erkeklerden oluşuyordu (%78.3, n= 18). Siklin D1 pozitifliği tüm vakalarda mevcuttur.

Tanı anındaki veriler kullanılarak, 6 akım sitometrik parametreyi içeren yeni bir immüfenotipik skorlama sistemi geliştirilmiştir. Bu sistem, aşağıdaki kriterlerin her birinin varlığı için 1 puan atamıştır: CD5  $\geq$ %20, CD23  $<$ %20, CD20  $\geq$ %60, CD22  $\geq$ %60, CD79b  $\geq$ %60, and FMC7  $\geq$ %20. Maksimum skor 6'dır. Skorlama kriterleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1. Skorlama sisteminde kullanılan akım sitometrisi parametreleri**

Belirteç	Pozitiflik Kriteri	Puan
CD5	$\geq$ %20	1
CD23	$<$ %20	1
CD20	$\geq$ %60	1
CD22	$\geq$ %60	1
CD79b	$\geq$ %60	1
FMC7	$\geq$ %20	1

Tablo 2. Klinik verilerin puanlanması ve dağılımı

Skor	Hasta Sayısı (n)	MIPI: Yüksek	MIPI: Orta	MIPI: Düşük	Tedavi Yanıtı: Refrakter	Tedavi Yanıtı: Relaps	Tedavi Yanıtı: Tam Yanıt	Eksitus	Sağ
2	2	1	1	0	2	0	0	2	0
3	3	2	1	0	1	2	0	3	0
4	6	4	0	2	1	4	1	4	2
5	9	4	3	2	2	3	4	4	5
6	3	3	0	0	1	0	2	1	2

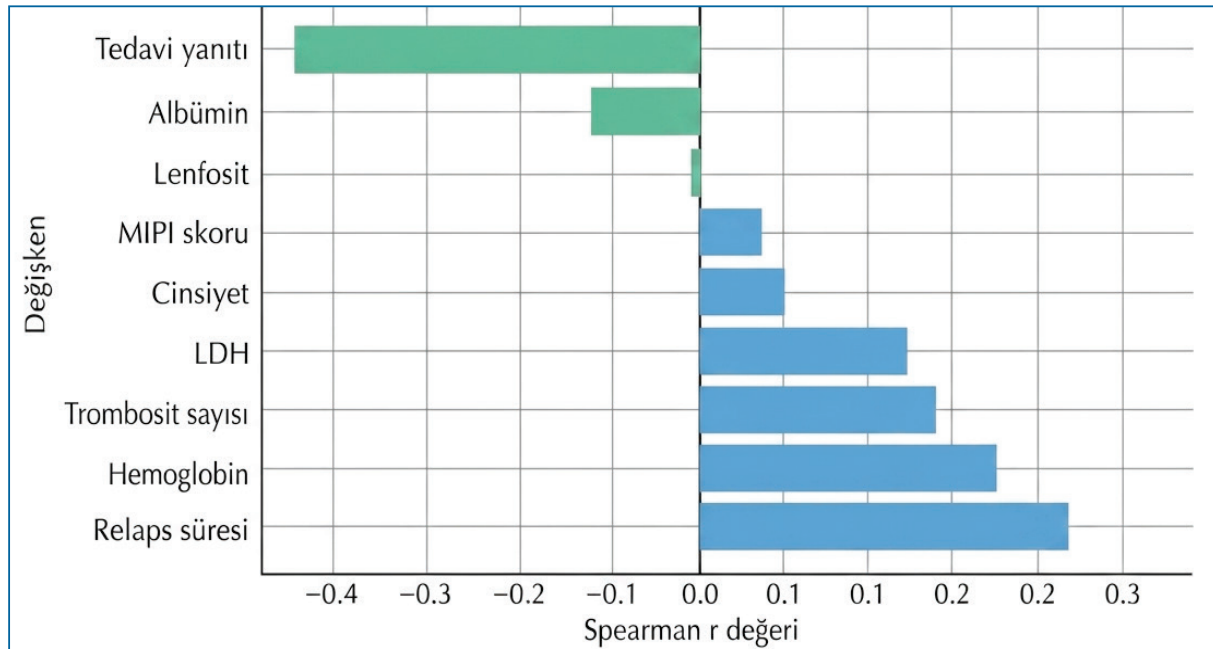
Hasta skorlarının dağılımı Tablo 2'de sunulmuştur. Dikkat çekici olarak, 18 hasta (%78.3) 4 veya daha yüksek bir skor elde ederek "immüfenotipik olarak yüksek uyumlu MHL" profili olarak sınıflandırılmıştır.

Yeni oluşturulan altı parametrelilik skorlama sistemi, çeşitli klinik ve laboratuvar değişkenleri ile ilişkisi açısından analiz edilmiştir. Skor ile LDH düzeyleri arasında zayıf pozitif korelasyon ( $r= 0.22$ ) gözlemlenmiştir; Benzer şekilde, hemoglobün düzeyleri ile zayıf pozitif korelasyon ( $r= 0.28$ ) bulunmuştur. Tersine, trombosit sayısı ile zayıf negatif korelasyon ( $r= -0.24$ ) kaydedilmiştir. Albümin düzeyleri ( $r= -0.09$ ) ve lenfosit sayısı ( $r= -0.01$ ) arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir. Ayrıca, MIPI ( $r= 0.06$ ) veya cinsiyet ( $r= 0.07$ ) gibi değişkenlerle de istatistiksel bir ilişki bulunmamıştır.

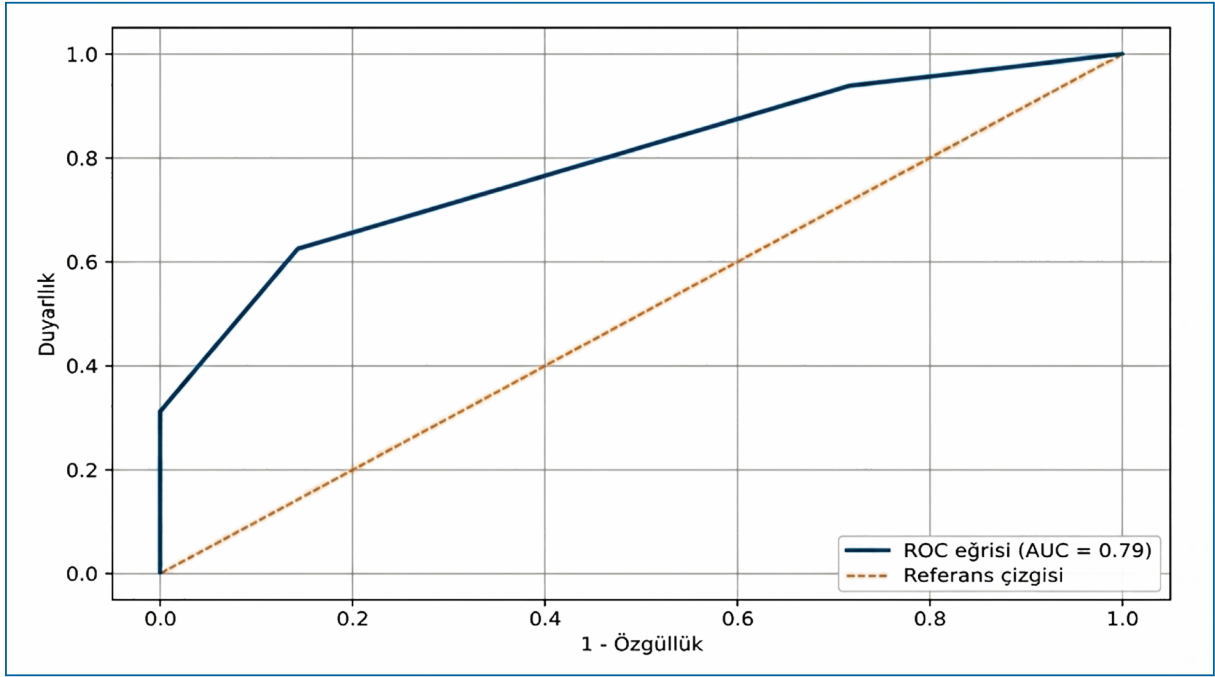
Tedavi yanıtına (nüks/refrakter vs. tam yanıt) karşı analiz edildiğinde, orta düzeyde negatif korelasyon ( $r= -0.41$ ) gözlemlenmiştir. Skor ile nüks süresi arasında orta düzeyde pozitif korelasyon ( $r= 0.31$ ) bulunmuştur.

Bu ilişkiler, altı parametrelilik skor ile klinik/laboratuvar değişkenleri arasındaki Spearman korelasyon katsayılarını karşılaştıran Şekil 1'deki grafikte görsel olarak temsil edilmiştir. Nükseden veya refrakter yanıtı öngörme kapasitesini değerlendirmek için uygulanan ROC analizi sonucunda, AUC değeri 0.79 [(%95 güven aralığı (GA): 0.59-0.94)] olarak hesaplanmıştır (Şekil 2). Güven aralığının alt sınırının 0.50 eşliğinin üzerinde seyretmesi, skorlama sisteminin klinik çıktılar ile potansiyel bir uyum sergilediğine işaret etmektedir. Youden indeksi analizi sonucunda, nüks riskini tanımlamada en yüksek prediktif doğruluğu sağlayan kesme noktası skorun  $\leq 4$  olduğu durumlar olarak saptanmıştır. Bu eşik değerde sistem, %62.5 duyarlılık ve %85.7 özgüllük performansı sergilemektedir. Skor kategorilerinin kohort içindeki yüzdesel dağılımı Şekil 3'te sunulmuştur.

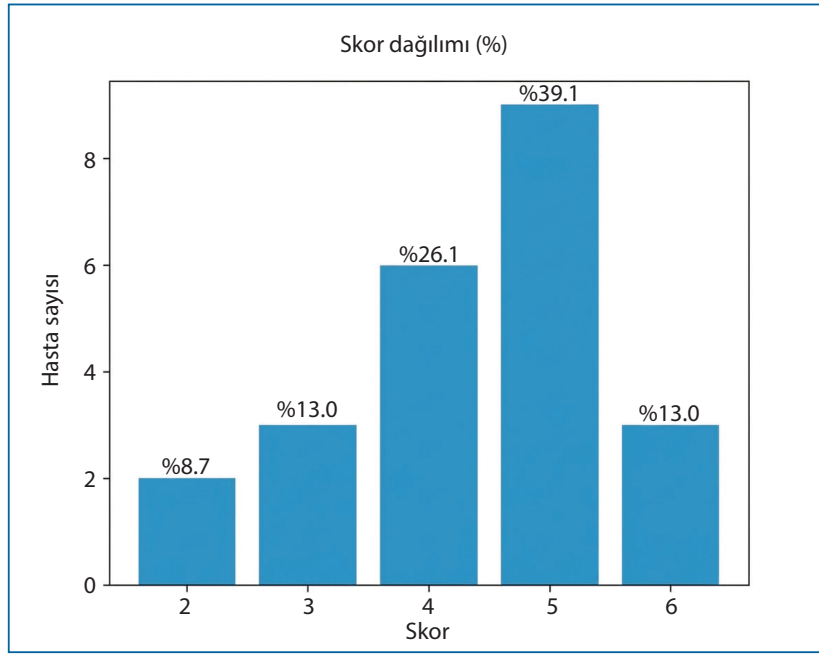
Ek olarak, Mann-Whitney U testi, erkek ve kadın hastalar arasında immüfenotipik skorlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur ( $p= 1.000$ ). Benzer şekilde, bu gruplardaki dengesiz dağılım



Şekil 1. Skorlama ile klinik/laboratuvar parametreleri arasındaki spearman korelasyonu.



Şekil 2. 6'lı skoreleme sisteminin relaps/refrakter hastaları ayırtma gücü.



Şekil 3. Altı parametrelili skoreleme sistemine göre hasta dağılımı.

nedeniyle sağkalım durumu gibi kategorik değişkenlerde de anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Yeni skoreleme sistemi ile LDH düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 1'deki grafikte görselleştirilmiştir. Beş ve 6 puanlı skor gruplarındaki LDH değerlerinin geniş bir aralık sergilediği ve bazı hastaların yüksek tümör yükünü gösteren düzeylere ulaştığı dikkat çekicidir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, MHL hastalarının hem tanısına hem de prognozuna yardımcı olmak için yeni bir 6 parametrelili skoreleme sistemi geliştirdik. Sistem, CD5, CD23, CD20, CD22, CD79b ve FMC7 gibi bir dizi anahtar belirtece odaklanarak klasik MHL fenotipini değerlendirmektedir.

Mevcut literatür, tipik MHL fenotipini CD5 pozitifliği, CD23 negatifliği ve güçlü CD20/CD22 ekspresyonu ile karakterize eder ve bu belirteçlerdeki varyasyonların klinik sonuçları etkileyebileceği iyi bilinmektedir (7,8).

Mantle hücreli lenfoma çevresindeki süregelen tanısallık zorluklar ve belirsizlikler, çeşitli immünofenotipik skorlama sistemlerinin oluşturulmasına yol açmıştır. Örneğin, Medd ve arkadaşları tarafından önerilen dört parametrelilik sistem, CD23 negatifliği, parlak CD20, CD38 pozitifliği ve trombositopeni kullanarak MHL tanısı için yüksek duyarlılık göstermiştir (9). Ancak, bu tür skorlama sistemlerinin atipik KLL gibi diğer CD5 pozitif lenfoproliferatif bozukluklarla karıştırılabileceğini öne süren Juncà ve arkadaşları tarafından özgüllüğü daha sonra sorgulanmıştır; bu da bu alanda daha fazla standardizasyona ihtiyaç olduğuna işaret etmektedir (10).

Çalışmamızda önerilen 6 parametrelilik skorlama sistemi, bu ihtiyaca yönelik olarak MHL'nin ayırıcı tanısındaki kritik belirteçler temel alınarak yapılandırılmıştır. Matutes ve arkadaşları tarafından önerilen klasik skorlama sistemi esas olarak KLL tanısına odaklanırken; bizim modelimiz MHL'ye özgü güçlü CD20, CD22 ve özellikle FMC7 pozitifliği gibi tipik özelliklere yoğunlaşmaktadır (5). FMC7 ekspresyonu, MHL vakalarında karakteristik bir özellik olup, KLL gibi ayırıcı tanıda önemli yer tutan diğer antitelere ayırıcı yüksek spesifiteye sahiptir (5,6). Bu doğrultuda FMC7'nin sisteme dahil edilmesi, modelin tanısallık özgüllüğünü artırmayı ve MHL'nin immünofenotipik yoğunluğunu daha yapılandırılmış bir şekilde tanımlamayı amaçlamaktadır. Bu bağlamda, bulgularımız yeni skorlama sistemimiz ile klinik sonuçlar arasındaki bağlantıya dair değerli bilgiler sunmaktadır. Beş-6 puanla sahip hastaların çoğunluğunun tam yanıt elde ettiği gözlemi, klasik bir fenotip ile daha uygun tedavi sonuçları arasında potansiyel bir ilişkiye işaret etmektedir. Tersine, daha düşük skorların refrakter vakalarda yoğunlaşması, atipik immünofenotipik profillerin tedavi direnci ve erken nüks riskinin yüksek olmasıyla bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir. Analizlerimizde saptanan  $\leq 4$  puanlık cut-off, bu atipik seyir için kritik bir eşik değeri teşkil etmekte olup, bu skorun altındaki vakalarda nüks eğiliminin belirginleştiği gözlenmiştir. Bu durum, CD23 pozitifliği gibi varyant ekspresyonların daha agresif alt tiplerle ilişkili olabileceğini gösteren önceki araştırmalarla uyumludur (6,11). Ayrıca, sonuçlarımız Falay ve arkadaşlarının AS panellerine CD200 ve CD43 gibi yeni belirteçler eklenmesinin KLL'yi MHL'den ayırmada tanısallık doğruluğunu artırabileceğini gösteren çalışmasıyla desteklenmektedir (12).

Çalışmamızdan elde edilen korelasyon verileri ve klinik gözlemler literatürle uyumlu bir eğilim sergilese de, örneklem büyüklüğümüzün kısıtlı olması (n= 23) nedeniyle bu sonuçların genellenmesi konusunda temkinli olunmalıdır.

Analizlerimiz büyük etki büyüklüklerini saptayabilecek güçte olsa da, daha düşük korelasyon gösteren bazı klinik parametrelerin anlamlılık düzeyine ulaşamaması örneklem kısıtlılığına bağlı bir Tip 2 hata olasılığını barındırmaktadır. Bu pilot çalışmadan elde edilen bulgularımız, istatistiksel bir kesinlikten ziyade, MHL'nin immünofenotipik heterojenliğini anlamaya yönelik keşifsel ve öncül veriler sunmaktadır. Bu nedenle, geliştirdiğimiz skorlama sisteminin hem tanısallık hem de prognostik gücünün valide edilmesi için daha geniş, prospektif ve çok merkezli hasta kohortlarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Korelasyon analizlerimiz aynı zamanda skorlama sistemimiz ile klinik ve laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkilere de ışık tutmaktadır. Laktat dehidrogenaz düzeyleri ile pozitif korelasyon (r= 0.22), daha yüksek bir tümör yükünün daha klasik bir immünofenotipik profile karşılık gelebileceğini düşündürmektedir (13). Nüks süresi ile pozitif korelasyon (r= 0.31) ve tedavi yanıtı ile negatif korelasyon (r= -0.41), daha yüksek skorlara sahip hastaların daha uzun bir nüks süresi yaşayabileceğini ve daha iyi bir tedavi yanıtı alabileceğine işaret etmektedir. Bu bulgu, atipik fenotipleri daha erken nükslerle ilişkilendiren literatürle tutarlıdır (6,11). Bunun, özellikle anti-CD20 bazlı tedavilere yanıtlar için CD20 ekspresyon düzeylerinin yeniden artan klinik önemini vurguladığına inanıyoruz (14,15). Alıcı işletim karakteristiği analizimizden elde edilen 0.79'lük AUC değeri (%95 GA: 0.59-0.94), tanı anısındaki immünofenotipik profilin nüks riskini öngörmeye bir biyobelirteç aday olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle %85.7'lik özgüllük oranı, klasik immünofenotipten sapmaların agresif klinik seyirle ilişkili olabileceğine dair öncül bir eğilimi desteklemektedir. Bu bulgunun daha büyük kohortlarda geçerliliğinin kesinlikle doğrulanması gerektiğini düşündürmektedir.

İlgilinc bir şekilde, immünofenotip skorumuz MIPI skoru ile yalnızca zayıf bir korelasyon (r= 0.06) göstermiştir. Bu bulgu, sistemimizin geleneksel prognostik modellerden bağımsız bir biyolojik belirteç olarak hizmet edebilme potansiyeline işaret etmektedir. Bu, MHL'de kapsamlı bir değerlendirme için sadece klinik evrelemenin değil, aynı zamanda moleküler ve fenotipik özelliklerin de dikkate alınması gerektiği fikrini desteklemektedir. Ancak, çalışmamızda yeni skorlama sistemi ile MIPI arasında düşük korelasyon saptanmış olsa da, örneklem büyüklüğünün (n= 23) sınırlı olması nedeniyle progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım analizleri ile MIPI'yi içeren çok değişkenli Cox regresyon analizi yapılamamıştır. Bu durum, skorlama sistemimizin bağımsız bir prognostik faktör olarak kesin kanıtlanmasını engellemektedir. Gelecekteki geniş ölçekli prospektif çalışmalarda, bu modelin MIPI ve diğer standart prognostik indekslerle birlikte çok değişkenli modellerde test edilmesi, sistemin klinik kullanım değerini netleştirecektir.

Öte yandan, çalışmamızın önemli bir kısıtlılığı; MHL'de kritik prognostik öneme sahip olan TP53 mutasyon durumu, Ki-67 proliferasyon indeksi ve SOX11 ekspresyonu gibi moleküler ve biyolojik belirteçlerin analiz edilmemiş olmasıdır. Literatürde, özellikle TP53 mutasyonlarının ve %30'un üzerindeki Ki-67 indeksinin, immüfenotipik profilden bağımsız olarak kötü prognoz ve kemodirenç ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir (16,17). Mevcut skorlama sistemimiz akım sitometrik tanısal standardizasyona odaklanmış olsa da, bu sistemin gelecekte TP53 mutasyonu veya Ki-67 gibi güçlü biyolojik belirteçlerle entegre edilmesi, MHL'nin heterojen klinik seyrini daha kapsamlı bir risk stratifikasyonu ile açıklama potansiyeli taşımaktadır. Bu moleküler verilerin eksikliği çalışmamızın biyolojik derinliğini sınırlasa da, sunduğumuz model, rutin laboratuvar pratiğinde hızlı ve erişilebilir bir başlangıç değerlendirmesi sunması bakımından değerlidir. Örneklem büyüklüğünün kısıtlı olması nedeniyle çok değişkenli analizler yapılamamış ve modelin prognostik indekslerle (MIPI) karşılaştırmalı sağkalım analizleri gerçekleştirilememiştir. Geliştirilen bu sistemin evrensel geçerliliği için bağımsız kohortlarda dış doğrulama çalışmaları gerekmektedir.

Sonuç olarak tanı anındaki immüfenotipik profile dayalı olarak geliştirdiğimiz 6 parametrelilik skorlama sistemi, rutin akım sitometri verilerini yapılandırılmış bir modelde sunması bakımından tanısal standardizasyona katkı sağlayabilecek yardımcı bir yaklaşım olma potansiyeli taşısa da, mevcut haliyle prognozu öngörmedeki gücü sınırlıdır. Nitekim AUC değeri (0.79) ve saptanan  $\leq 4$  kesme noktası, dikkate alındığında, sistemin klinik sonuçları öngörme kapasitesinin geliştirilmesi ve daha geniş hasta gruplarında randomize çalışmalarla valide edilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bu bulguların sınırlı örneklem büyüklüğümüz nedeniyle dikkatle yorumlanması ve daha büyük, prospektif kohortlarda doğrulanması gerektiğini belirtmek önemlidir. Gelecekteki çalışmaların, MHL için daha kişiselleştirilmiş tedavi stratejileri oluşturulmasına yardımcı olmak amacıyla bu skorlama sistemini genetik mutasyonlar (örneğin, TP53) ve minimal rezidüel hastalık durumu gibi moleküler parametrelerle entegre edebileceği düşünce-sindeyiz. (18).

#### ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Tarih: 08.05.2025, Karar no: 25-5T/26).

#### HAKEM DEĞERLENDİRMESİ

Dış bağımsız.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### MALİ AÇIKLAMA

Çalışma için doğrudan veya dolaylı mali destek alınmadı. Çalışma ile ilgili herhangi bir firma veya kişi ile ilgili ticari bağlantı yoktur.

#### YAZAR KATKISI

Literatür taranması: Tüm yazarlar; Vakaların takip ve tedavi aşamaları: Tüm yazarlar; Verilerin toplanması: Tüm yazarlar; Makalenin yazımı: Tüm yazarlar; Onaylama: Tüm yazarlar.

#### KAYNAKLAR

- Lynch DT, Koya S, Dogga S, Kumar A. Mantle Cell Lymphoma. 2023 Jul 28. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2025 Jan-. Updated 2023 Jul 28. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536985/>
- Jain P, Wang ML. Mantle cell lymphoma in 2022-A comprehensive update on molecular pathogenesis, risk stratification, clinical approach, and current and novel treatments. *Am J Hematol* 2022;97(5):638-56. <https://doi.org/10.1002/ajh.26523>
- Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32(27):3059-68. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.8800>
- Keklik M, Köker MY, Korkmaz S, Şivgin S, Kaynar L, Çamlıca D, et al. A flow cytometric scoring system in the diagnosis of mantle cell lymphoma. *J Clin Pract Res* 2016 ;38(1):25-28. <https://doi.org/10.5152/etd.2016.0009>
- Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994;8(10):1640-5.
- Saksena A, Yin CC, Xu J, Li J, Zhou J, Wang SA, et al. CD23 expression in mantle cell lymphoma is associated with CD200 expression, leukemic non-nodal form, and a better prognosis. *Hum Pathol* 2019;89:71-80. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.04.010>
- Jain P, Wang M. Mantle cell lymphoma: 2019 update on the diagnosis, pathogenesis, prognostication, and management. *Am J Hematol* 2019;94(6):710-25. <https://doi.org/10.1002/ajh.25487>
- Dreyling M, Campo E, Hermine O, Jerkeman M, Le Gouill S, Rule S, et al. ESMO Guidelines Committee. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017;28(suppl\_4):iv62-iv71. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx223>
- Medd PG, Clark N, Leyden K, Turner S, Strefford JA, Butler C, et al. A novel scoring system combining expression of CD23, CD20, and CD38 with platelet count predicts for the presence of the t(11;14) translocation of mantle cell lymphoma. *Cytometry B Clin Cytom* 2011;80(4):230-7. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20590>
- Juncà J, Ruiz-Xivillé N, Granada I, Rodríguez-Hernández I, Navarro JT, Mate JL, et al. Scoring systems in mantle cell lymphoma: a critical point of view. *Cytometry B Clin Cytom*. 2012;82(2):120-2. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20620>
- DiRaimondo F, Albitar M, Huh Y, O'Brien S, Montillo M, Tedeschi A, et al. The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease. *Cancer* 2002;94(6):1721-30. <https://doi.org/10.1002/cncr.10401>

12. Falay M, Afacan Öztürk B, Güneş K, Kalpakçı Y, Dağdaş S, Ceran F, et al. The role of CD200 and CD43 expression in differential diagnosis between chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Turk J Haematol* 2018;35(2):94-8. <https://doi.org/10.4274/tjh.2017.0085>
13. Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans HC, et al. German low grade lymphoma study group (GLSG); European mantle cell lymphoma network. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* 2008;111(2):558-65. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-095331>
14. Romaguera JE, Fayad L, Rodriguez MA, Broglio KR, Hagemester FB, Pro B, et al. High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J Clin Oncol* 2005;23(28):7013-23. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.01.1825>
15. Ghielmini M, Vitolo U, Kimby E, Montoto S, Walewski J, Pfreundschuh M, et al. Panel Members of the 1st ESMO Consensus Conference on Malignant Lymphoma. ESMO Guidelines consensus conference on malignant lymphoma 2011 part 1: diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), follicular lymphoma (FL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Ann Oncol* 2013;24(3):561-76.
16. Eskelund CW, Dahl C, Hansen JW, Westman M, Kolstad A, Pedersen LB, et al. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemioimmunotherapy. *Blood* 2017;130(17):1903-10. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-779736>
17. Determann O, Hoster E, Ott G, Wolfram Bernd H, Loddenkemper C, Leo Hansmann M, et al. European Mantle Cell Lymphoma Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group. Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2008;111(4):2385-7. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-10-117010>
18. Beà S, Valdés-Mas R, Navarro A, Salaverria I, Martín-García D, Jares P, et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(45):18250-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314608110>