ĐỊNH LƯỢNG TỰ ĐỘNG DẤU ẤN CD3+ Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TUYẾN VÚ XÂM NHẬP BẰNG PHẦN MỀM QUPATH: TỔNG QUAN Y VĂN VÀ THỬ NGHIỆM THỰC TIỄN TẠI VIỆT NAM

Trần Thị Thanh Nhàn[1], Đoàn Thị Phương Thảo[2], Nguyễn Vũ Thiện[3]
Trần Hương Giang[2,3], Nguyễn Ngọc Lâm[2], Ngô Phúc Thịnh[2]
Lưu Đức Tùng[4] và Nguyễn Thị Hoàng An[1,3,✉]
[1]Trường Đại học Tây Nguyên
[2]Bệnh viện Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh
[3]Trường Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
[4]Bệnh viện Đa khoa Vạn Hạnh

Việc đánh giá thấm nhập lymphô bào trong u (TILs) thông qua biểu hiện của dấu ấn CD3+ mang lại giá trị tiên lượng độc lập trong ung thư biểu mô tuyến vú. Tuy nhiên, việc đánh giá ước lượng truyền thống đang tồn tại độ biến thiên giữa những lần đọc cũng như giữa các bác sĩ Giải Phẫu Bệnh. Bài viết này đề xuất một quy trình 4 bước ứng dụng phần mềm QuPath và đánh giá tính khả thi bước đầu trên nhóm mẫu thử nghiệm gồm 14 tiêu bản kỹ thuật số (WSI) tại Việt Nam. Quy trình tập trung vào việc hiệu chuẩn véc-tơ màu mật độ quang học (OD), phân đoạn tế bào dựa trên thuật toán Watershed và gán nhãn CD3+ tự động thông qua ngưỡng cường độ DAB. Kết quả thực chứng cho thấy khả năng trích xuất khách quan các thông số mật độ TILs/mm² với tính lặp lại cao. Tuy nhiên, độ chính xác của mô hình trí tuệ tăng cường này phụ thuộc chặt chẽ vào sự đồng nhất màu nhuộm và chất lượng khâu tiền phân tích. QuPath là giải pháp chiến lược giúp hỗ trợ bác sĩ giải phẫu bệnh trong định lượng CD3⁺, nhưng việc triển khai thực tế đòi hỏi sự chuẩn hóa quy trình kỹ thuật và đào tạo chuyên sâu về bệnh học kỹ thuật số.

Từ khóa: Ung thư biểu mô tuyến vú, vi môi trường khối u, thấm nhập lymphô bào trong u, bệnh học kỹ thuật số.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo dữ liệu từ GLOBOCAN 2022, ung thư vú (UTV) hiện là bệnh lý ác tính phổ biến nhất tại Việt Nam, đứng đầu ở cả hai giới với 24.563 ca mắc mới.[1,2] Để đáp ứng với nhu cầu điều trị cá thể hóa bệnh nhân (BN), việc đánh giá vi môi trường miễn dịch khối u (Tumor Immune Microenvironment - TIME) đang được chứng minh là một yếu tố tiên lượng độc lập quan trọng giúp dự báo mức độ tiến triển của bệnh đã trở thành một phần trọng tâm trong chẩn đoán và điều trị.

Thấm nhập lymphô bào trong u (TILs) ở TIME, với đa số là các tế bào (TB) lymphô T, đặc trưng bởi dấu ấn CD3⁺, được xác nhận là dấu ấn sinh học có giá trị tiên lượng và dự báo đáp ứng hóa trị tân bổ trợ mạnh mẽ, đặc biệt ở phân nhóm phân tử bộ ba âm tính (TNBC) và HER2 dương.[3-6] TILs được đánh giá theo hướng dẫn của Nhóm nghiên cứu TILs Quốc tế năm 2014 (ITWG 2014), tuy nhiên, việc đánh giá TILs bằng mắt thường thông qua kính hiển vi quang học vẫn đối mặt với những rào cản lớn về sự biến thiên giữa các lần đọc của cùng một người và giữa các bác sĩ giải phẫu bệnh (GPB).

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hoàng An
Trường Y, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
Email: nthan@ttn.edu.vn
Ngày nhận: 17/03/2026
Ngày được chấp nhận: 28/04/2026

Sự thiếu đồng thuận này, đặc biệt ở các trường hợp có mức độ TILs trung gian, có thể dẫn đến sai lệch trong phân tầng nguy cơ bệnh nhân, từ đó tác động trực tiếp đến tính chính xác của các quyết định hỗ trợ điều trị trên lâm sàng.[7,8]

Để khắc phục nhược điểm này, GPB kỹ thuật số (DP) ra đời như một cuộc cách mạng, cung cấp khả năng định lượng khách quan, thông qua các quy trình xác thực nghiêm ngặt của bản hướng dẫn từ Hội giải phẫu bệnh học Hoa Kỳ 2021 (CAP 2021).[9,10] Việc ứng dụng trí tuệ nhân tạo (AI) và các phần mềm mã nguồn mở như QuPath để trích xuất tự động dữ liệu mật độ tế bào (số lượng tế bào/mm^2) không chỉ giải quyết bài toán kinh tế mà còn tăng tính khách quan và có độ lặp lại cao, góp phần chuẩn hóa dữ liệu đối với các dấu ấn miễn dịch như CD3$^+$ trong TILs.[10] Tại Việt Nam, việc ứng dụng hệ thống DP trong thực hành lâm sàng đang đối mặt với các hạn chế lớn như: sự thiếu hụt đội ngũ bác sĩ chuyên sâu về bệnh học thuật toán, hạ tầng máy quét chưa đồng bộ tại các tuyến, và đặc biệt là rào cản lớn về sự biến thiên trong khâu tiền phân tích (thời gian thiếu máu lạnh, quy trình cố định mô, chất lượng kỹ thuật nhuộm hóa mô miễn dịch).[11] Qua bài viết nhóm nghiên cứu muốn cung cấp: (1) tổng quan cơ sở thuật toán và các bước tiếp cận kỹ thuật của phần mềm QuPath trong định lượng dấu ấn CD3$^+$; (2) cung cấp dữ liệu minh họa thực tiễn bước đầu trên mẫu bệnh phẩm ung thư vú xâm nhập để minh chứng tính khả thi; và (3) phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình định lượng tự động, mong muốn góp phần vào lộ trình chuẩn hóa đánh giá TILs trong UTV nói riêng và ứng dụng DP tại Việt Nam, tiến tới bắt kịp theo xu hướng thế giới nói chung.

II. NỘI DUNG TỔNG QUAN

1. Dấu ấn CD3$^+$ và vi mô trường khối u

Sự tiến triển của UTV chịu sự điều phối chặt chẽ của TIME thông qua cơ chế chỉnh sửa miễn dịch. Quá trình này diễn ra qua ba giai đoạn tuần tự: loại bỏ, cân bằng và trốn thoát miễn dịch.[12,13]

TILs là đại diện phản ánh chân thực phản ứng miễn dịch chống u của vật chủ gồm[14],: TILs mô u (intratumoral TILs - iTILs) và TILs mô đệm u (stromal TILs - sTILs)[3]. Mật độ CD3$^+$ cao trong mô đệm u đã được chứng minh có mối tương quan thuận với thời gian sống còn toàn bộ (OS), sống còn không bệnh (DFS) và khả năng đáp ứng với hóa trị tân bổ trợ.[15,16] CD3$^+$ là một dấu ấn xuyên màng đặc hiệu, đại diện cho tổng thể phản ứng miễn dịch thích ứng chống lại khối u, hiện diện trên màng của mọi TB lymphô T trưởng thành và đóng vai trò then chốt trong quá trình truyền tín hiệu của phức hợp thụ thể TB T (TCR).[14] Sự phân bố của CD3$^+$ trong khối u không đồng nhất và mang ý nghĩa sinh học khác nhau tùy vào vị trí của chúng.[11,16,17]

Vùng rìa u: Thường có mật độ CD3$^+$ cao nhất, đóng vai trò ngăn chặn sự lan rộng của khối u.

Trung tâm u: Sự hiện diện của CD3$^+$ ở vùng trung tâm u cho thấy khả năng thâm nhập hiệu quả; mức độ khu trú cao giữa TB u và TB miễn dịch là chỉ số dự báo sống còn quan trọng.[18]

Việc định lượng dấu ấn CD3$^+$ mang lại cái nhìn chính xác hơn về mật độ thực sự của TB lymphô T trong TILs. Đặc biệt, khi kết hợp CD3$^+$ với các nền tảng bệnh học kỹ thuật số (KTS) và phần mềm phân tích hình ảnh như QuPath, các nhà GPB có thể trích xuất dữ liệu mật độ TB CD3$^+$/mm^2 và vị trí phân bố một cách hoàn toàn tự động và khách quan.[18] Đây chính là bước ngoặt để chuyển đổi từ chẩn đoán hình thái đơn thuần sang giải mã bản chất miễn dịch của từng BN. Nghiên cứu của Loughrey và cộng sự chỉ ra rằng việc định lượng CD3$^+$ bằng các công cụ KTS có khả năng phân tầng tiên lượng mạnh mẽ hơn so với phương pháp đếm thủ công truyền thống.[19]

Công nghệ Qupath trong phân tích ảnh giải phẫu bệnh

Hiện nay, kết quả TILs vẫn chủ yếu dựa vào phương pháp bán định lượng qua kính hiển vi quang học theo hướng dẫn của ITWG năm 2014. Do đó, một giải pháp chuẩn hóa mang tính hệ thống để khắc phục khoảng trống lớn nhất của phương pháp hiện tại là cần thiết. QuPath được phát triển như một nền tảng mã nguồn mở chuyên biệt, có năng lực xử lý các tệp tiêu bản kĩ thuật số (Whole Slide Imaging - WSI) với dung lượng lớn tới hàng chục GB.[20] Khác biệt với các công cụ xử lý ảnh phổ thông, QuPath được xây dựng dựa trên sự thấu hiểu sâu sắc về bản chất quang học của mô bệnh học, quy trình kỹ thuật cơ bản bao gồm:

Bước 1 - Tách màu: QuPath sử dụng thuật toán tách màu dựa trên mật độ quang học (Optical Density - OD), giúp chuyển đổi cường độ pixel không tuyến tính thành giá trị mật độ thuốc nhuộm tuyến tính.[20,21]

Quá trình này cho phép phần mềm cô lập chính xác các véc-tơ màu đặc trưng của từng loại thuốc nhuộm:

Kênh Hematoxylin: Cô lập các hạt nhuộm xanh ở nhân TB, làm cơ sở cho bước phát hiện TB.

Kênh DAB: Cô lập tín hiệu nhuộm nâu đặc hiệu của dấu ấn HMMD trên màng TB. Việc tách kênh này giúp loại bỏ sự nhiễu loạn của màu xanh nhân khi tính toán cường độ nhuộm.

Kênh Màu nền: Xác định các tín hiệu thừa và màu trắng của nền lam kính.

Quá trình này giúp tách biệt kênh Hematoxylin (nhân) và phát hiện TB được nhuộm HMMD dương tính (DAB), đồng thời hỗ trợ chuẩn hóa thuốc nhuộm để loại bỏ sai lệch giữa các mẫu bệnh phẩm khác nhau, ngay cả tại những vùng mô có sự chồng lấp tín hiệu phức tạp trong TIME.[21,22]

Bước 2 - Phát hiện TB: Tích hợp thuật toán Watershed (phân đoạn dựa trên ngưỡng cường độ sáng và hình thái học truyền thống) để phân đoạn chính xác các nhân TB chồng lấp, một thách thức lớn khi TILs có mật độ TB cao.[20]

Bước 3 - Trích xuất đặc điểm: Máy tính tự động đo lường các thông số như diện tích nhân, chu vi và cường độ màu sắc của từng TB đơn lẻ trên độ phân giải 0,25µm/pixel (tương đương vật kính 40x).[20]

Bước 4 - Học máy: Sử dụng các bộ phân loại như Random Trees để huấn luyện máy học cách phân biệt chính xác vùng u, vùng mô đệm và tách biệt TB dương tính với các TB âm tính hoặc mảnh vụn mô dựa trên dữ liệu chuẩn từ bác sĩ GPB.[20]

Bước 5 - Phân tích không gian: Tính toán các tham số không gian như khoảng cách TB gần nhất và chỉ số Morisita - Horn để đánh giá sự tương tác chức năng giữa hệ miễn dịch và khối u.[20]

2. Nghiên cứu thử nghiệm

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu hồi cứu, cắt ngang mô tả với 111 bệnh nhân đã được chẩn đoán carcinôm tuyến vú xâm nhập tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh trong thời gian từ 01/01/2021 đến ngày 31/12/2023, đáp ứng các tiêu chuẩn bao gồm tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ.

Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu

- Hồ sơ đầy đủ các dữ liệu lâm sàng, chẩn đoán lâm sàng theo TNM, có số điện thoại liên hệ được với bệnh nhân.

- Bệnh nhân có tiêu bản Hematoxylin & Eosin (H&E) và khối vùi nến còn nguyên vẹn, đủ để nhuộm HMMD với dấu ấn $CD3^+$.

Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu

- Bệnh phẩm của bệnh nhân ung thư đa cơ quan hoặc/ và đã có hóa – xạ trị trước đó.

- Tiêu bản nhuộm H&E hoặc/ và khối vùi nến bị hỏng, không còn mô u để khảo sát, không đủ để nhuộm HMMD.

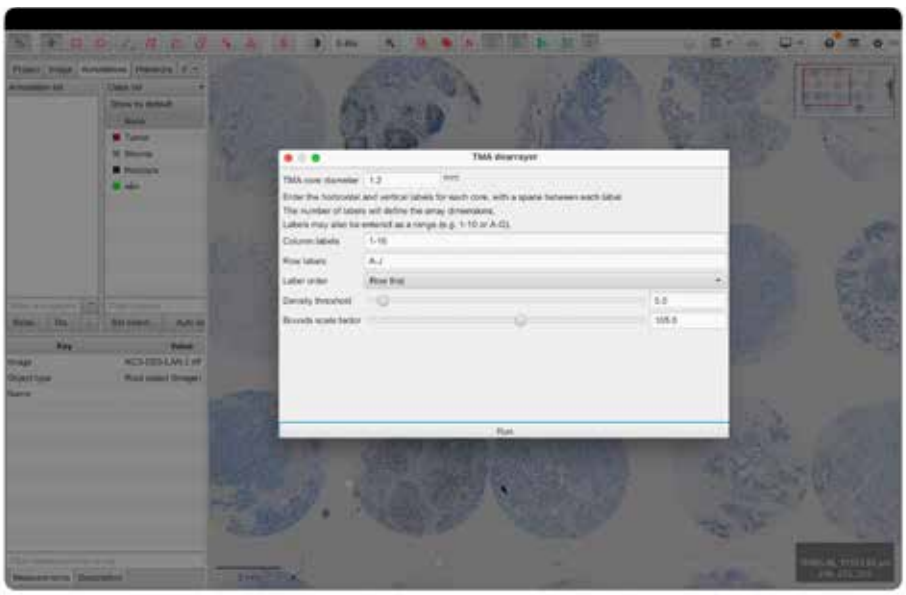
- Tiêu bản H&E không có sự hiện diện của tế bào viêm mạn tính (lymphô bào).

Các bước thực hiện

- Tìm kiếm và thu thập thông tin bệnh nhân.
- Đánh giá tiêu bản H&E.
- Nhuộm HMMD: Để kiểm soát sai số tiền phân tích, toàn bộ mẫu bệnh phẩm trong nghiên cứu thử nghiệm đều tuân thủ nghiêm ngặt tiêu chuẩn của Hội GPB Hoa Kỳ (CAP 2021) về khâu cố định: sử dụng Formol đệm trung tính 10% với thời gian cố định từ 6 đến 72 giờ. Mô u được cắt mỏng 4 µm, nhuộm HMMD với dấu ấn $CD3^+$ (Pha sẵn, Ventana) trên hệ thống máy tự động BenchMark XT automated slide stainer của công ty Ventana, sau đó được số hóa bằng hệ thống máy quét với độ phân giải 0,25 µm/pixel (tương đương vật kính 40x) tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.
- Định lượng TB $CD3^+/mm^2$ ở mô đệm u: Tiêu bản được đánh giá bởi hai BS GPB có trên 5 năm kinh nghiệm, quy trình định lượng được thực hiện trên Qupath (phiên bản 0.6.0) bao gồm 4 bước như sau:

Bước 1: Tiền xử lý và nhận diện mô

Nhập và chuẩn hóa dữ liệu: Hình ảnh WSI được tải vào QuPath. Tiến hành rã dãy tự động để tách từng lõi mô, quan sát và loại bỏ thủ công các lõi không có mẫu mô đạt chuẩn hoặc bị gấp nếp, bị lỗi.



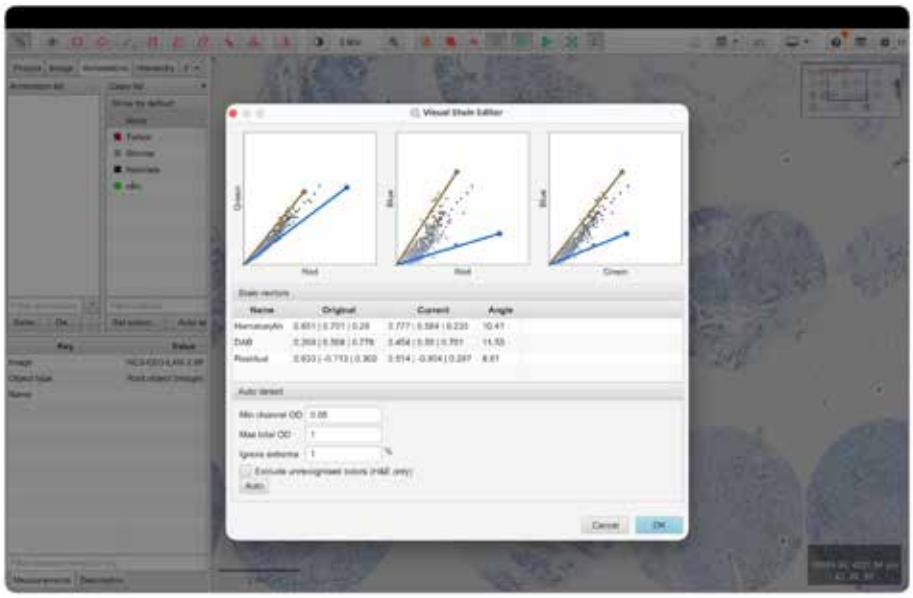
Hình 1. Tự động hoá tách lõi mô TMA và gán tên cho từng lõi

(Hình ảnh tiêu bản TMA nhuộm $CD3^+$ trên mẫu bệnh phẩm UTV xâm nhập được trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

Tách màu KTS: Thiết lập véc-tơ màu để hệ thống nhận diện chính xác cường độ quang học của kênh Hematoxylin và kênh DAB.

Nhận diện tổng diện tích mô: Sử dụng lệnh Simple tissue detection để máy tính tự động khoanh vùng và tính toán tổng diện tích mô có trên tiêu bản, loại bỏ khoảng trắng.

Chuẩn hóa màu: Sự không đồng nhất về màu sắc giữa các mẫu mô do quá trình nhuộm hay sự thay đổi bề mặt tiêu bản là lý do lớn nhất gây sai lệch cho AI. Bằng cách sử dụng các thuật toán chuẩn hóa (như Macenko) hình ảnh sẽ có một sắc độ chuẩn, đảm bảo tính nhất quán của dữ liệu đầu vào trước khi chạy thuật toán nhận diện.[23]

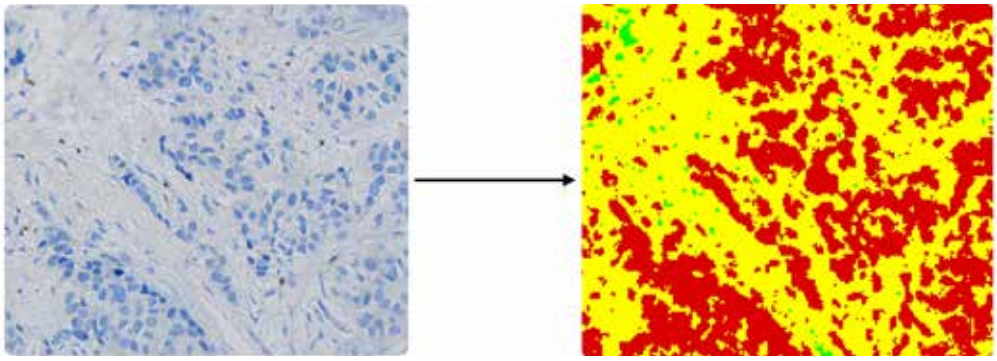


Hình 2. Tiến hành thiết lập véc-tơ màu cho mỗi tiêu bản

(Hình ảnh trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

Bước 2: Phân loại không gian mô u và mô đệm u

Tiến hành chú thích thủ công các vùng đại diện cho mô u, mô đệm và mô nền.[3] Dữ liệu này được dùng để huấn luyện bộ phân loại Random Trees. Thuật toán rất dễ nhầm lẫn giữa vùng mô đệm xơ hóa và các dải TB u bị ép dẹt. Do đó, bước này đòi hỏi sự giám sát và tinh chỉnh liên tục của bác sĩ GPB để có kết quả chính xác nhất.[20]

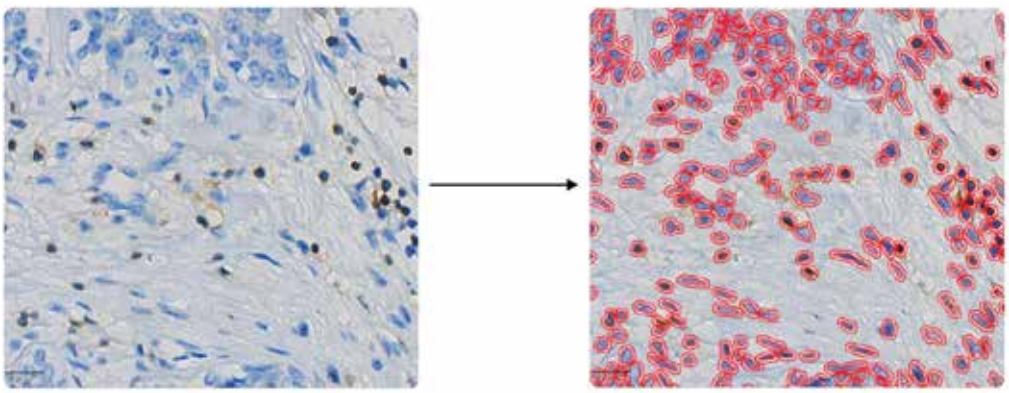


Hình 3. Phân vùng mô u và mô đệm u tự động bằng thuật toán học máy Random Trees trên phần mềm QuPath

(Hình ảnh trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

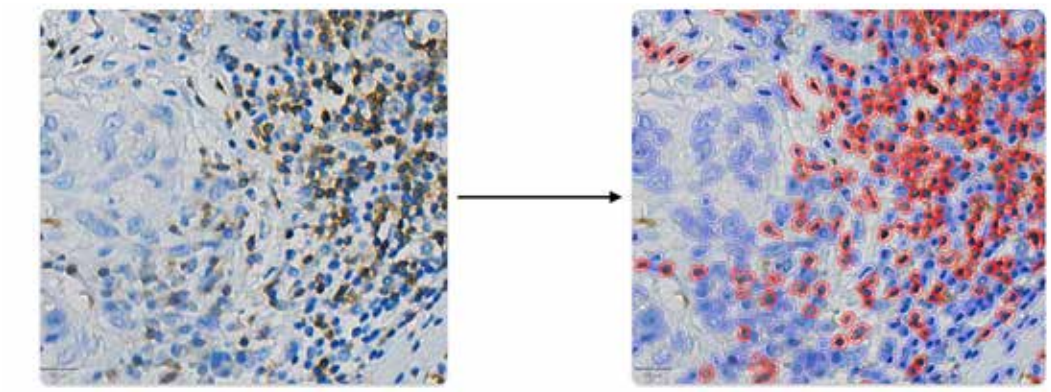
Bước 3: Phân loại tế bào[3,18]

Áp dụng thuật toán Cell detection sẽ quét qua toàn bộ các phân vùng không gian và nhận diện từng TB đơn lẻ dựa trên đặc trưng bắt màu hạt nhân của kênh Hematoxylin.[20]



Hình 4. Ứng dụng thuật toán nhận diện TB
Phần mềm tự động nhận diện và phân chia ranh giới TB
(Hình ảnh trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

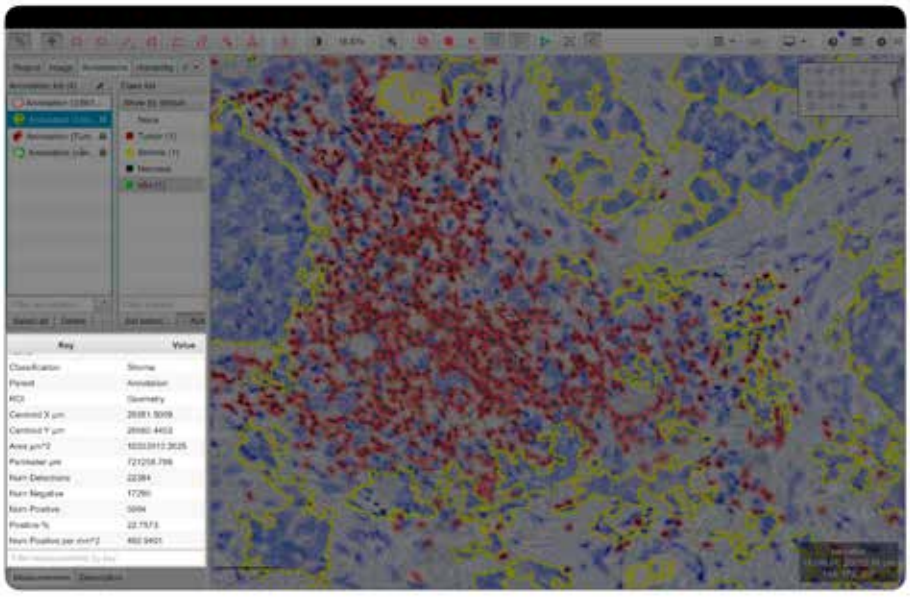
Phân loại dương tính $CD3^+$: thiết lập một ngưỡng cường độ quang học cố định cho kênh DAB tại vùng màng TB. Hệ thống sẽ áp dụng lệnh Single measurement classifier để gán nhãn TB thành $CD3^+$ dương tính (nếu vượt ngưỡng) và $CD3^+$ âm tính (nếu dưới ngưỡng).



Hình 5. TB lymphô T ($CD3^+$) bắt màu màng TB được thuật toán nhận diện và gán nhãn
(Tiêu bản nhuộm HMMD kháng thể $CD3^+$, độ phóng đại 40x. Hình ảnh trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

Bước 4: Trích xuất dữ liệu mật độ

Máy tính sẽ tổng hợp dữ liệu giao thoa giữa Bước 2 và Bước 3 để xuất ra số lượng TB $CD3^+$/mm^2 theo từng vùng không gian chuyên biệt (mô u và mô đệm u), ghi nhận dữ liệu TB $CD3^+$/mm^2 ở mô đệm u.



Hình 6. Bảng thông số mật độ phân bố CD3⁺ trong vi môi trường khối u

Biểu diễn trực quan sự phân bố của TB lymphô T CD3⁺ ở mô đệm u

(Hình ảnh trích xuất từ thực nghiệm của nhóm tác giả)

Số liệu được nhập và đối chiếu 2 lần, được quản lý và mã hóa bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và sẽ được xử lý bằng phần mềm thống kê Stata (phiên bản 17.0). Tương quan được xem là có ý nghĩa thống kê khi phép kiểm có p < 0,05. Các thống kê được thực hiện với độ tin cậy 95%, với sai lầm loại 1 là 5%.

Kết quả thực nghiệm bước đầu

Nghiên cứu đánh giá trên 14 tiêu bản được nhuộm HMMD với CD3⁺ (14 hình ảnh WSI - 111 mẫu bệnh phẩm UTV xâm nhập), áp dụng quy trình kỹ thuật nêu trên, chúng tôi thu nhận được kết quả số lượng TB CD3⁺/mm² (Bảng 1).[3,24]

Bảng 1. Thống kê mô tả mật độ tế bào lymphô T CD3⁺ (tế bào/mm²)

Dấu ấn	Trung bình ± ĐLC	Trung vị (Min - Max)	Khoảng tứ phân vị (IQR)
CD3	1168,83 ± 1366,47	676,5 (20 - 6650)	1237

Bảng tóm tắt quy trình định lượng CD3⁺ tự động với Qupath được trình bày trong Hình 7.

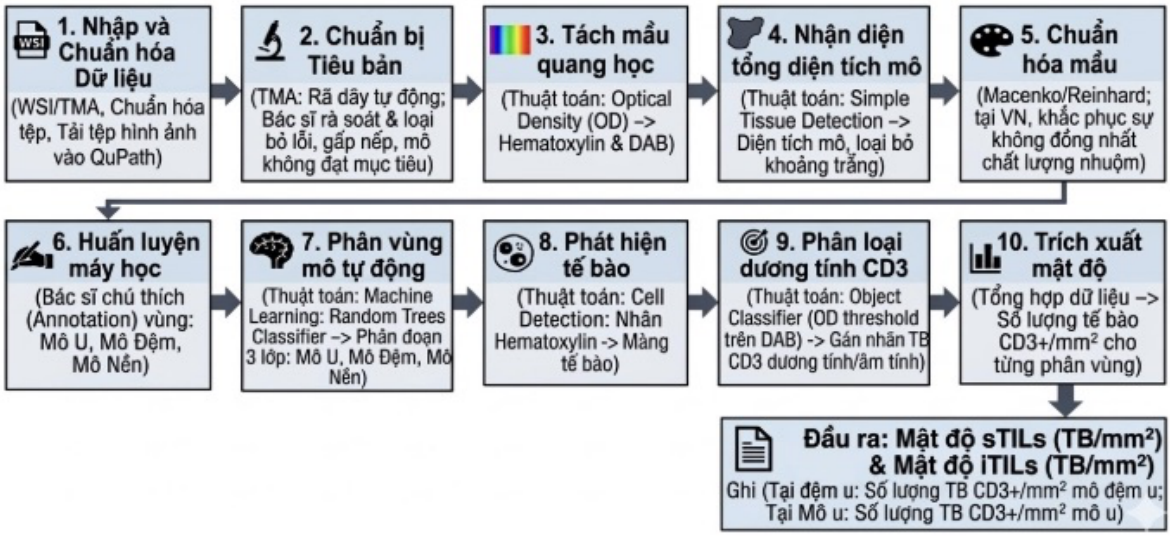
3. Thực tiễn tại Việt Nam

Dù QuPath cung cấp các thuật toán nhận diện TB mạnh mẽ và miễn phí, việc triển khai hiệu quả quy trình này trong thực tiễn lâm sàng tại Việt Nam vẫn đối mặt với những thách thức lớn, đặc biệt là sự biến thiên của giai đoạn tiền phân tích.

Tại nhiều cơ sở y tế, hiện nay, quy trình cố định bệnh phẩm chưa được chuẩn hóa đồng bộ. Sự chậm trễ trong thời gian thiếu máu lạnh, sử dụng formol không đạt chuẩn hoặc thời gian cố định kéo dài dẫn đến hiện tượng biến tính kháng nguyên, co rút TB và giả xơ hóa mô đệm. Những sai lệch hình thái này ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất của phần mềm:

Biến thiên màu nhuộm nền*:* Nếu nhân bắt quá đậm, thuật toán Watershed sẽ gặp khó khăn trong việc phân đoạn, dẫn đến gộp chung các TB lymphô nằm sát nhau thành một khối, làm giảm số lượng thực tế.

Sự không ổn định của kênh DAB: Hiện tượng



Hình 7. Sơ đồ quy trình định lượng CD3⁺ tự động bằng phần mềm QuPath

tín hiệu DAB nhạt màu theo thời gian hoặc bắt màu nền không đặc hiệu bắt buộc BS GPB phải thiết lập lại ngưỡng OD thủ công cho từng tiêu bản. Điều này làm giảm đi tính tự động hóa và tăng thời gian thao tác.

Do đó, việc thiết lập quy trình vận hành chuẩn (SOP) theo quy định của CAP năm 2021 tại các phòng lab là điều kiện tiên quyết trước khi tiến hành số hóa, việc kiểm soát chất lượng phải được thực hiện xuyên suốt qua ba giai đoạn: kiểm soát chất lượng nhuộm, hiệu chuẩn thuật toán và vai trò giám sát của bác sĩ (BS).[9,10] Vai trò giảm sát được thực hiện bởi ít nhất một BS GPB đã qua đào tạo và có kinh nghiệm, nhằm:

Kiểm chứng và hiệu chỉnh: rà soát kết quả dự báo của máy ngay trên màn hình. Nếu máy nhận diện sai (ví dụ: nhầm mô hoại tử là TB lymphô), BS sẽ bổ sung các ví dụ sửa lỗi cho đến khi đạt được độ chính xác mong muốn.

Đánh giá độ tương hợp: Quy trình đánh giá được thực hiện với khoảng cách tối thiểu là 2 tuần giữa các lần đọc để loại bỏ sai số do ghi nhớ và độ tương hợp chẩn đoán giữa hai phương pháp phải đạt mức ≥ 95%.[9] Nếu ICC thấp hơn ngưỡng này, cần thực hiện rà soát lại các bước tiền xử lý ảnh hoặc hiệu chỉnh lại ngưỡng phát hiện của thuật toán.

Thiết lập hồ sơ kiểm định: Toàn bộ phương pháp, số liệu đo lường và phê duyệt cuối cùng phải được lưu trữ trong hồ sơ kiểm định của phòng xét nghiệm để phục vụ công tác quản lý chất lượng và thanh tra chuyên môn. Kết quả kiểm định phải được văn bản hóa chi tiết, bao gồm các thông số kỹ thuật của máy quét, phiên bản phần mềm QuPath và các thiết lập thuật toán cụ thể. Giám đốc và BS chịu trách nhiệm chuyên môn là người phê duyệt cuối cùng, xác nhận hệ thống đủ điều kiện để đưa vào sử dụng cho mục đích chẩn đoán và tiên lượng.[22,24]

Khi so sánh với các phần mềm thương mại đắt đỏ như Halo hay Visiopharm, QuPath là một giải pháp mã nguồn mở mang lại giá trị kinh tế cao cho các cơ sở y tế tại Việt Nam, nhưng đòi hỏi người sử dụng phải có kiến thức nền tảng vững chắc về nguyên lý quang học và thuật toán xử lý ảnh.[20] Ngoài ra, vẫn cần chú ý đến việc đầu tư hệ thống máy quét WSI đạt tiêu chuẩn chẩn đoán và xây dựng chương trình đào tạo liên tục về bệnh học kỹ thuật số cho đội ngũ bác sĩ và kỹ thuật viên y khoa.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu thử nghiệm bước đầu cho thấy sự khả thi khi ứng dụng QuPath trong định lượng mật độ TB $CD3^+$ trong TILs. Sự dịch chuyển sang nền tảng DP này cho phép trích xuất khách quan các thông số mật độ liên tục (TB/mm^2 trong sTILs và iTILs) với tính lặp lại cao, khắc phục được độ biến thiên của phương pháp đếm thủ công truyền thống.

Quá trình triển khai DP tại Việt Nam bước đầu cũng đã chỉ ra những rào cản thực tế tại các phòng lab GPB, do đó, việc chuẩn hóa nghiêm ngặt quy trình tiền phân tích và vai trò giám sát chuyên môn của BS GPB là điều kiện bắt buộc trước khi đưa công nghệ số hóa này vào thực hành lâm sàng thường quy.

Bệnh học kỹ thuật số không thay thế con người, mà sự cộng hưởng giữa năng lực tính toán của trí tuệ nhân tạo và BS, vì vậy, vai trò giám sát chuyên môn của BS GPB khi ứng dụng DP chính là nền tảng vững chắc hướng tới kỷ nguyên y học cá thể hóa

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Tây Nguyên (Đề tài: T2025-44CB). Chúng tôi trân trọng cảm ơn Khoa Y Dược (Đại học Tây Nguyên), Khoa Giải phẫu bệnh (Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh) đã tạo điều kiện thực hiện, cùng Ban biên tập và quý phản biện vì những góp ý quý báu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2024;74(3):229-263.

2. Zhang Y, Ji Y, Liu S, et al. Global burden of female breast cancer: new estimates in 2022, temporal trend and future projections up to 2050 based on the latest release from GLOBOCAN. *Journal of the National Cancer Center*. 2025;5(3):287-296.

3. Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of oncology*. 2015;26(2):259-271.

4. Tran Linh Dang Ngoc, Pham Tam Minh, Nguyen Quy Hoang, et al. Predictive and prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a real-world study from Vietnam. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2025;17:17588359251403410.

5. Denkert C, Von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *The lancet oncology*. 2018;19(1):40-50.

6. Trần Trung Toàn, Dương Thị Ngọc Ánh, Tạ Văn Tờ. Lympho bào xâm nhập u và mối liên quan với một số đặc điểm mô bệnh học trong ung thư biểu mô vú bộ ba âm tính. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2024;179(6):90-98.

7. International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. Pitfalls in assessing stromal tumor infiltrating lymphocytes (sTILs) in breast cancer. *NPJ Breast Cancer*. 2020;6(1):17.

8. Van Bockstal MR, François A, Altinay S, et al. Interobserver variability in the assessment of stromal tumor-infiltrating lymphocytes (sTILs) in triple-negative invasive breast carcinoma influences the association with pathological complete response: the IVITA study. *Modern pathology*. 2021;34(12):2130-2140.

9. Evans AJ, Brown RW, Bui MM, et al. Validating whole slide imaging systems for diagnostic purposes in pathology. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2022;146(4):440-450.

10. Cai X, Chen Y, Li Q, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in Luminal breast cancer: A novel computational method for assessing TILs abundance and spatial distribution patterns. *The Breast*. 2025:104634.

11. Đào Văn Tú, Bùi Thị Oanh, Nguyễn Lê Hiệp, Vũ Đức Hoàn, Đặng Hữu Dũng, Nguyễn Văn Chủ, Bùi Văn Giang, Tạ Văn Tờ. Tổng quan nghiên cứu ứng dụng trí tuệ nhân tạo trong chẩn đoán ung thư vú bằng ảnh giải phẫu bệnh kỹ thuật số. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2021;500(1).

12. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature immunology*. 2002;3(11):991-998.

13. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-1570.

14. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the international immunooncology biomarkers working group: part 1: assessing the host immune response, TILs in invasive breast carcinoma and ductal carcinoma in situ, metastatic tumor deposits and areas for further research. *Advances in anatomic pathology*. 2017;24(5):235-251.

15. Locy H, Verhulst S, Cools W, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: a proposal for combining immunohistochemistry and gene expression analysis to refine scoring. *Frontiers in immunology*. 2022;13:794175.

16. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006;313(5795):1960-1964.

17. Trương Thị Thảo Hiền. Liên quan giữa giá trị lympho bào xâm nhập mô đệm khối u và đáp ứng hoàn toàn về mô bệnh học trên bệnh nhân ung thư vú bộ ba âm tính điều trị tân bổ trợ. *Tạp chí Y Dược lâm sàng 108*. 2025;20(7).

18. Berben L, Wildiers H, Marcelis L, et al. Computerised scoring protocol for identification and quantification of different immune cell populations in breast tumour regions by the use of QuPath software. *Histopathology*. 2020;77(1):79-91.

19. Loughrey MB, Bankhead P, Coleman HG, et al. Validation of the systematic scoring of immunohistochemically stained tumour tissue microarrays using QuPath digital image analysis. *Histopathology*. 2018;73(2):327-338.

20. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-7.

21. Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Anal Quant Cytol Histol*. 2001;23(4):291-299.

22. Bera K, Schalper KA, Rimm DL, Velcheti V, Madabhushi A. Artificial intelligence in digital pathology-new tools for diagnosis and precision oncology. *Nature reviews Clinical oncology*. 2019;16(11):703-715.

23. Macenko M, Niethammer M, Marron JS, et al. A method for normalizing histology slides for quantitative analysis. 2009 IEEE Int Symp Biomed Imaging. 2009:1107-1110.

24. Acs B, Pelekanou V, Bai Y, et al. Ki67 reproducibility using digital image analysis: an inter-platform and inter-operator study. *Laboratory Investigation*.

Summary

AUTOMATED QUANTIFICATION OF CD3⁺ MARKER IN INVASIVE BREAST CARCINOMA USING QUPATH SOFTWARE: A LITERATURE REVIEW AND PILOT STUDY IN VIETNAM

The assessment of Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) via CD3⁺ marker expression provides independent prognostic value in breast carcinoma. However, traditional visual estimation exhibits significant intra-observer and inter-observer variability among pathologists. This article proposes a four-step protocol utilizing QuPath software and evaluates its preliminary feasibility on a pilot cohort of 14 digital whole-slide images (WSIs) in Vietnam. The workflow focuses on calibrating optical density (OD) color vectors, segmenting cells based on the Watershed algorithm, and automatically labeling CD3⁺ cells via DAB intensity thresholds. Empirical results demonstrate the objective extraction of TIL density parameters (cells/mm²) with high reproducibility. However, the accuracy of this augmented intelligence model is strictly dependent on staining consistency and pre-analytical quality. QuPath serves as a strategic solution to assist pathologists in CD3⁺ quantification, but its practical implementation requires technical standardization and specialized training in digital pathology.

Keywords: Breast carcinoma, tumor microenvironment, tumor-infiltrating lymphocytes, digital pathology.