ISSN: 1692-7257 - Volumen 1 – Número 47 - 2026

ORIGINAL

RCTA
Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada
UNIPAMPLONA

# Evaluación de técnicas de normalización de color para reducción de heterogeneidad de tejidos en imágenes histopatológicas de cáncer de mama

## *Comparison of color normalization techniques for reduction of tissue heterogeneity in breast cancer histopathological images*

**Diego Andrés Castellano Carvajal**[1]
**Sergio Alexander Castro Casadiego**[2]
**Carlos Vicente Niño Rondón**[2]
**Byron Medina Delgado**[2]

[1] **Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ingeniería y Ciencias, Cali, Valle del Cauca, Colombia.**
[2] **Universidad Francisco de Paula Santander, Departamento de Electricidad y Electrónica, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia.**

Recibido: 01 julio 2025. Revisado: 01 septiembre 2025. Aceptado: 20 diciembre 2025. Publicado: 01 enero 2026.
**Autor de correspondencia:** Diego Andrés Castellano Carvajal

**Cómo citar:** D. A. Castellano Carvajal, S. A. Castro Casadiego, C. V. Niño Rondón, and B. Medina Delgado, "Evaluación de técnicas de normalización de color para reducción de heterogeneidad de tejidos en imágenes histopatológicas de cáncer de mama", *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada (RCTA)*, vol. 1, no. 47, ene. 2026, art. no. 4283, doi: 10.24054/rcta.v1i47.4283

Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0.

**Resumen:**

La normalización del color en imágenes histopatológicas se considera una etapa inicial orientada para contribuir con la coherencia en el análisis computacional de tejidos teñidos con hematoxilina y eosina (H&E). En este trabajo, se evalúan tres métodos de normalización de color en imágenes histopatológicas de cáncer de mama (Macenko, Reinhard y Vahadane) utilizando métricas cuantitativas ORB, SSIM y correlación de histogramas. En términos de ORB y SSIM, Vahadane destacó por preservar mejor las estructuras morfológicas con valores consistentemente altos, lo que es crucial para análisis computacional. No obstante, Vahadane presentó variabilidad en la correlación de histogramas, en contraste con Macenko y Reinhard, quienes lograron correlaciones más altas y consistentes en todas las muestras con valores promedio de 0.9628 y 0.9385. Esto resalta que la elección del método depende del balance entre fidelidad estructural y distribución cromática según el caso.

**Palabras clave:** normalización de color, imágenes histopatológicas, cáncer de mama.

**Abstract:**

Color normalization in histopathological images is considered an initial step aimed at contributing to consistency in the computational analysis of hematoxylin and eosin (H&E)-stained tissues. In this work, three color normalization methods are evaluated in histopathological images of breast cancer (Macenko, Reinhard, and Vahadane) using quantitative metrics ORB, SSIM, and histogram correlation. In terms of ORB and SSIM, Vahadane stood out for better preserving morphological structures with consistently high values, which is crucial for computational analysis. Nevertheless, Vahadane presented variability in histogram correlation, in contrast to Macenko and Reinhard, who achieved higher and consistent correlations across all samples with average values of 0.9628 and 0.9385. This highlights that the choice of method depends on the balance between structural fidelity and chromatic distribution depending on the case.

**Keywords:** color normalization, histopathologic imaging, breast cancer.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el cáncer de mama se ha convertido en una de las principales causas de mortalidad entre las mujeres a nivel mundial[1]. Se ha observado un aumento significativo en la incidencia de nuevos casos, superando incluso al cáncer de pulmón como el tipo de cáncer más común en el mundo. En este contexto, el ganglio linfático centinela desempeña un papel crucial, ya que representa el primer punto de metástasis en los ganglios linfáticos asociados al cáncer de mama. Este ganglio recibe la línea del tumor primario, lo que facilita la diseminación de las células cancerosas[2].

Las imágenes histopatológicas teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) constituyen una herramienta importante en el diagnóstico del cáncer de mama. Sin embargo, estas imágenes presentan variabilidad en la tinción debido a diferencias en los reactivos y las condiciones de adquisición de imágenes, lo que puede generar heterogeneidad en los tejidos y afectar los procesos de análisis computacional y la interpretación por parte de los patólogos[3].

Se han desarrollado diversas técnicas de normalización del color para estandarizar el aspecto cromático de las imágenes y facilitar su comparación, mejorando así el rendimiento de los modelos de segmentación [4] y clasificación automatizada [5]. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran los métodos de Macenko, Reinhard y Vahadane, que aplican diferentes enfoques matemáticos para ajustar la distribución del color en las imágenes [6].

de Haan et al.[7]presentan un innovador marco basado en el aprendizaje profundo para transformar imágenes de tejidos teñidos con H&E en tinciones especiales, como la tricromática de Masson, la PAS y la tinción con plata de Jones. Este método utiliza datos registrados espacialmente para entrenar redes neuronales profundas supervisadas, lo que elimina la dependencia de datos no emparejados. La generación de tinciones especiales (PAS, tricrómica de Masson y Jones) a partir de imágenes H&E mejoró el diagnóstico de varias enfermedades renales no neoplásicas en un 22,4 %.

Runz et al.[8]investigan el uso de CycleGAN (red generativa adversaria cíclica) para la normalización del color en imágenes histológicas teñidas con hematoxilina-eosina (H&E) con el objetivo de reducir las variaciones causadas por las diferencias en la adquisición de imágenes, el procesamiento de tejidos y la tinción. Las puntuaciones del índice de similitud estructural (SSIM) indicaron una alta similitud entre las imágenes reales y sus reconstrucciones, con puntuaciones superiores a 0,9 para ambos dominios de imagen.

Zhao et al.[9]presentan RestainNet, un modelo de aprendizaje autodirigido diseñado para normalizar digitalmente las manchas de color en imágenes patológicas. Este innovador modelo utiliza un proceso de recoloración digital de imágenes en escala de grises, aplicando tintes digitales de hematoxilina (H) y eosina (E) extraídos mediante la ley de Beer-Lambert. Además, se introduce una nueva función de pérdida de tinción para garantizar la corrección de la intensidad del tinte durante el proceso de retinción. Las comparaciones cuantitativas con otros métodos demostraron que RestainNet supera a los enfoques existentes en varios parámetros. RestainNet obtuvo una puntuación de 0,917 ± 0,019 en el FSIM (índice de similitud de características), que es superior a la de otros métodos. Además, en el PSNR (relación señal-ruido máxima), RestainNet alcanzó 21,550 ± 3,665, lo que supone una mejora significativa.

Franchet et al.[10]presentan dos nuevas técnicas, AugmentHE y HEnorm, que buscan mitigar el sesgo en la clasificación de imágenes histológicas. Estas técnicas mejoran la precisión y la generalización de los modelos de aprendizaje automático utilizados en patología digital, específicamente en la clasificación histológica del cáncer de mama. Al combinar los conjuntos de datos PACS05 y PACS08, la combinación de HEnorm y augHE mostró un AUC de 0,85 ± 0,02, en comparación con 0,82 ± 0,02 en PACS05 y 0,73 ± 0,07 en PACS08 por separado.

El método propuesto por Tosta et al.[11], denominado SCN-RDL, se centra en estimar las matrices de apariencia del color y los mapas de densidad de las manchas. Se introducen enfoques para la selección de píxeles y la definición de pesos, lo que mejora la estimación del color. La normalización propuesta se evaluó utilizando las bases de datos DCIS-UDH y UCSB. Los resultados mostraron que el método de normalización del color SCN-RDL es eficaz para mejorar la calidad y la consistencia de las imágenes teñidas con hematoxilina y eosina (H&E), alcanzando un FSIM (índice de similitud de características) de 0,9866.

Jeong et al.[12]desarrollan un modelo de difusión basado en puntuaciones para la normalización de manchas. Para evitar confusiones en la transferencia de color, proponen un método de separación de manchas que utiliza la factorización de matrices no negativas dispersas (SNMF) y ventanas móviles superpuestas para evitar artefactos de cuadrícula. El método propuesto superó a los métodos convencionales y a los basados en redes adversarias generativas en varios aspectos cuantitativos, mostrando robustez en datos no vistos.

Tabatabaei et al.[13]proponen un marco de recuperación de imágenes histopatológicas basado en el contenido (CBHIR) que utiliza la normalización del color para mejorar la precisión del diagnóstico del cáncer. Se evaluaron las técnicas Macenko, Vahadane y BKSVD en el conjunto de datos CAMELYON17, destacando BKSVD como la más eficaz, ya que logró una mejora del 97 % en la precisión de la recuperación de imágenes. El trabajo demuestra que una normalización eficaz del color reduce la variabilidad, mejora las características críticas de las imágenes y optimiza el rendimiento de las herramientas

asistidas por ordenador.

Este artículo presenta la evaluación y comparación de estas tres técnicas de normalización del color en imágenes histopatológicas de ganglios linfáticos con cáncer de mama. La evaluación se realiza utilizando criterios que miden la conservación de las características estructurales y texturales, así como la clasificación de histogramas, lo que permite analizar la similitud cromática entre imágenes normalizadas.

## METODOLOGÍA

Se propone una metodología en tres etapas. En la primera etapa, se analiza la naturaleza del conjunto de datos CAMELYON. En la segunda etapa, se aplican métodos de normalización del color a las imágenes histopatológicas. Por último, en la tercera etapa, se compara la eficacia de los métodos de normalización del color en las imágenes histopatológicas.

### Naturaleza del conjunto de datos CAMELYON

CAMELYON hace referencia al conjunto de datos centrado en la detección de metástasis de cáncer de mama en ganglios linfáticos que contiene imágenes de preparaciones completas (WSI) de tejidos teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) obtenidas de muestras de ganglios linfáticos de pacientes. Las imágenes se digitalizan utilizando escáneres de diapositivas de alta resolución para realizar un análisis profundo a nivel celular. Para este trabajo se utilizó la versión CAMELYON16, que contiene 400 imágenes WSI. Utilizan profundidad de color con canales rojo, verde y azul, y se almacenan en formato TIFF (Tagged Image File Format)[14].

El conjunto de datos destaca la variación en la tinción de las imágenes, producida por las diferencias en los procesos de tinción H&E, la calidad de los reactivos y los parámetros en la digitalización, lo que supone un reto en el análisis automatizado que afecta al rendimiento de los modelos de segmentación[15]. Por lo tanto, el conjunto de datos CAMELYON es adecuado para comparar y evaluar técnicas de normalización del color en términos de estandarización de la apariencia de las imágenes y reducción de la influencia de las variaciones. La tabla 1 presenta un resumen del conjunto de datos, incluyendo aspectos técnicos y descriptivos de las imágenes histopatológicas.

***Tabla 1. Resumen técnico del conjunto de datos CAMELYON16.***

| Aspecto | Detalle |
|---|---|
| Tipo de datos | Imágenes histopatológicas digitalizadas |
| Fuente | Ganglios linfáticos de pacientes con cáncer de mama |
| Resolución | 40x (alta resolución) |
| Formato de imagen | .tiff (formato sin pérdida) |
| Tamaño de imagen | Aproximadamente 100 000 x 100 000 píxeles |
| Profundidad de color | 24 bits (RGB) |
| Número de diapositivas | 400 |
| Técnica de tinción | Hematoxilina y eosina (H&E) |

*Fuente: Elaboración propia*

### Técnicas para la normalización del color

Para el análisis y la comparación de los métodos de normalización del color, se aplicó un preprocesamiento para la extracción de parches, en el que cada WSI se dividió en parches de 1024 x 1024 píxeles, centrándose en las regiones con tejido relevante y variaciones en la tinción H&E.

### Macenko

Este método propuesto por Macenko[16]se basa en la separación de las tinciones H&E utilizando un modelo óptico y la normalización de las intensidades de color. Las imágenes se convierten del espacio de color RGB al espacio de color óptico utilizando el modelo de Beer-Lambert para separar los componentes de la tinción, como se muestra en la ecuación (1), donde I es el vector RGB normalizado.

La descomposición en valores singulares se aplica a la matriz de intensidad del color para estimar los vectores de mancha que representan las direcciones de color predominantes en la imagen, tal y como se presenta en la ecuación (2), donde OD es el valor de densidad óptica observado y V y S son las matrices de los vectores de mancha y las saturaciones de cada una de las manchas, respectivamente.

| | |
|---|---|
| $OD = -\log_{10}(I)$ | (1) |
| $S = V^{-1}OD$ | (2) |

Las intensidades de color de la imagen original se proyectan sobre los vectores de tinción, y las intensidades de tinción se normalizan con una transformación lineal ajustada con la media y la desviación estándar de las intensidades de tinción. Por último, la imagen se reconstruye en el espacio RGB utilizando las intensidades normalizadas y los vectores de tinción.

**Reinhard**

Se implementó el método Reinhard[17]para normalizar las imágenes H&E, en el que la distribución del color de la imagen de destino se transfiere a la imagen de origen en el espacio de color CIE Lab. Inicialmente, las imágenes se convierten de RGB a CIE Lab. A continuación, se calculan las medias y las desviaciones estándar de los canales$l$,$\alpha$y$\beta$para las imágenes. Posteriormente, se aplica una transformación lineal a los píxeles de la imagen de origen utilizando las medias y las desviaciones estándar de la imagen de referencia, como se muestra en las ecuaciones(3), (4) y(5). Por último, la imagen normalizada se convierte al espacio RGB.

| | |
|---|---|
| $l' = \frac{l,source}{l,target}\left(l-\frac{1}{2}target\right)+\frac{1}{2}source$ | **(3)** |
| $\alpha' = \frac{\alpha,source}{\alpha,target}\left(\alpha-\frac{1}{2}target\right)+\frac{1}{2}source$ | (4) |
| $\beta' = \frac{\beta,source}{\beta,target}\left(\beta-\frac{1}{2}target\right)+\frac{1}{2}source$ | (5) |

**Vahadane**

Se implementó el método propuesto por Vahadane[18], que se basa en la separación de las manchas de hematoxilina y eosina (H&E) utilizando un modelo óptico y la reconstrucción de imágenes normalizadas. Inicialmente, las imágenes RGB se convierten al espacio de densidad óptica OD para linealizar la relación entre la intensidad de la luz y la concentración de la mancha, lo que permite una separación más eficaz de las manchas. A continuación, se utiliza una factorización de matriz no negativa con restricciones de dispersión (SNMF) para separar las manchas de tinción, como se muestra en la ecuación (6), donde V es la matriz de densidad óptica, W contiene los vectores de color de las manchas y H los mapas de densidad.

| | |
|---|---|
| $V=WH$ | (6) |

La matriz de concentración de tinción se estima minimizando una función de coste para evitar la no negatividad y la dispersión de la concentración, como se ve en la ecuación (7), sujeta a$W$,H≥0, donde$\lambda$es el parámetro que controla la dispersión de los mapas de intensidad$H$.

| | |
|---|---|
| $W,H^{\frac{1}{2}\left(V-WH\right)^2}F^{\lambda}\sum_{j=1}^{r}\left(\frac{1}{2}W_{j,j}\right)^{\frac{1}{2}}1$ | (7) |

Las concentraciones de colorante de la imagen original se normalizan con una transformación lineal en el espacio de concentración para que coincidan con la media y la varianza estándar de las concentraciones de colorante de la imagen objetivo. La imagen normalizada se reconstruye en el espacio RGB utilizando las concentraciones normalizadas y la matriz de colorante de la imagen de referencia para preservar las estructuras tisulares con una distribución de color estandarizada, tal y como se indica en la ecuación (8), donde V_(norm)=W_(t)H_(s)^(norm),$W_t$es la matriz vectorial de color de la imagen de destino y$H^S_{norm}$es la matriz del mapa de densidad normalizado de la imagen de origen.

| | |
|---|---|
| $I_{norm} = I_o exp(-V_{norm})$ | (8) |

**Criterios de evaluación**

ORB (Oriented Fast and Rotated Brief) es un algoritmo de detección y descriptor utilizado para comparar características entre imágenes histopatológicas antes y después de la normalización, con el fin de evaluar la imagen normalizada en términos de conservación de las estructuras tisulares y celulares. ORB combina dos componentes principales: FAST (Features from Accelerated Segment Test), un detector de puntos para identificar regiones de interés en la imagen basándose en la intensidad de los píxeles, y BRIEF (Binary Robust Independent Elementary Features), un descriptor utilizado para representar las características detectadas.

El índice de similitud estructural (SSIM) es una métrica de similitud de imágenes basada en la luminancia, el contraste y los componentes estructurales, que tiene en cuenta la percepción visual humana para evaluar la calidad de las imágenes médicas y cuantificar la similitud estructural entre las imágenes originales y las normalizadas. La ecuación (9) describe la métrica, donde$\mu_x$y$\mu_y$son las medias de las imágenes$x$e$y$,$\sigma_x^2$y$\sigma_y^2$son las varianzas de las imágenes x e y,$\sigma_{xy}$es la covarianza entre$x$e y, y$C_1$y$C_2$son las constantes que evitan la división por cero.

El método de correlación estadística también se utilizó para analizar los histogramas de distribución generados por cada imagen en escala de grises. En este caso, H1, H2, H3 y H4 representan los histogramas correspondientes a la imagen original, la imagen normalizada por el método Macenko, la imagen resultante del método Reinhard y la imagen obtenida con el método Vahadane, respectivamente. Estos histogramas se normalizaron en el mismo espacio de escala para facilitar la comparación de la similitud entre las imágenes.

Se aplicó la correlación con estadísticas descriptivas (media, desviación estándar, mínimo y máximo) para determinar la relación entre los histogramas, obteniendo valores en el rango de -1 a 1. Un valor cercano a 1 indica una correlación directa perfecta, mientras que un valor cercano a -1 sugiere una correlación inversa perfecta. Por otro lado, un valor cercano a 0 implica que no existe correlación entre las variables. La ecuación (10) describe la metodología utilizada para

calcular la correlación punto a punto a partir de los valores obtenidos en los histogramas.

| | |
|---|---|
| $\frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2\sum(y-\bar{y})^2}}$ | (9) |
| $r(H_1,H_2) = \frac{\sum_I (H_1(I)-\bar{H}_1)(H_2(I)-\bar{H}_2)}{\sqrt{\sum_I (H_1(I)-\bar{H}_1)^2 \sum_I (H_2(I)-\bar{H}_2)^2}}$ | (9) |

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Basándose en la metodología propuesta, la figura 1 presenta el preprocesamiento realizado en las imágenes del conjunto de datos CAMELYON16 redimensionadas a 1024 x 1024 píxeles, donde la sección A muestra las imágenes en representación RGB, la sección B muestra la imagen objetivo que es representativa del conjunto de datos y captura las características típicas de la tinción (intensidad de hematoxilina y eosina). La sección C muestra la normalización de Macenko, en D la normalización de Reinhard y en E la normalización de Vahadane.

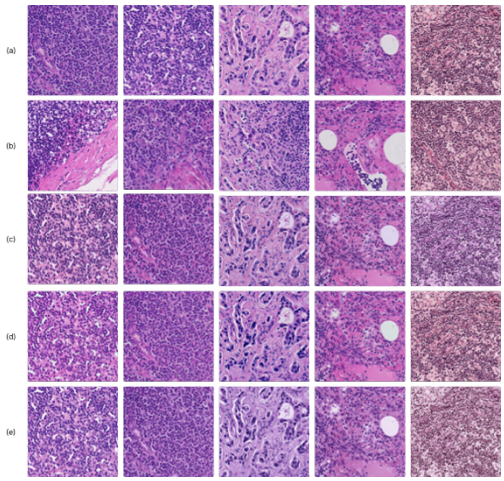

***Fig. 1.*** *Normalización del color de las imágenes H&E de CAMELYON16*
*Source: Elaboración propia*

Del mismo modo, la figura 2 muestra los histogramas obtenidos en cada una de las cinco imágenes de prueba para la validación de los métodos de normalización del color de las imágenes H&E, donde se puede observar la redistribución de los canales de color y las variaciones entre los histogramas que representan los ajustes sugeridos por cada modelo en función de la sensibilidad a las diferencias de tinción o iluminación. Los histogramas correspondientes a A, B y E mostraron una mejor consistencia en la distribución de intensidades tras la normalización. Esto se reflejó en una distribución más uniforme de los valores de intensidad, con picos bien definidos y menos dispersión en los canales de color (hematoxilina y eosina). Por el contrario, los histogramas C y D mostraron una mayor variabilidad en la distribución de intensidades. Esto podría deberse a diferencias inherentes a la tinción original de estas imágenes, como una tinción excesiva o insuficiente, o la presencia de artefactos que dificultaban la normalización.

La tabla 2 presenta los valores de correlación y las estadísticas descriptivas entre los tres métodos de normalización de imágenes histopatológicas: Macenko, Reinhard y Vahadane.

Se evaluaron cinco muestras que representaban imágenes histopatológicas de diferentes pacientes o tejidos. Se observa que, en la muestra 1, Macenko y Reinhard tienen una alta correlación de 0,9540 y 0,9038, respectivamente, mientras que Vahadane tiene una correlación menor, con un valor de 0,8213. Por otro lado, en la muestra 5, Vahadane muestra una correlación significativamente menor en comparación con Macenko y Reinhard.

***Tabla 2. Valores de correlación y estadísticas descriptivas por método de normalización***

| Muestra | Macenko | Reinhard | Vahadane | Estadísticas | Macenko | Reinhard | Vahadane |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Muestra 1 | 0.9540 | 0.9038 | 0.8213 | Media | 0.9628 | 0.9385 | 0.8281 |
| Muestra 2 | 0.9994 | 0.9677 | 0.9851 | Desviación estándar | 0.0189 | 0.0316 | 0.1811 |
| Muestra 3 | 0.9549 | 0.9223 | 0.9359 | Mínimo | 0.9508 | 0.9038 | 0.5130 |
| Muestra 4 | 0.9508 | 0.9197 | 0.8853 | Máximo | 0.9994 | 0.9791 | 0.9851 |
| Muestra 5 | 0.9547 | 0.9791 | 0.5130 | | | | |

*Source: Elaboración propia*

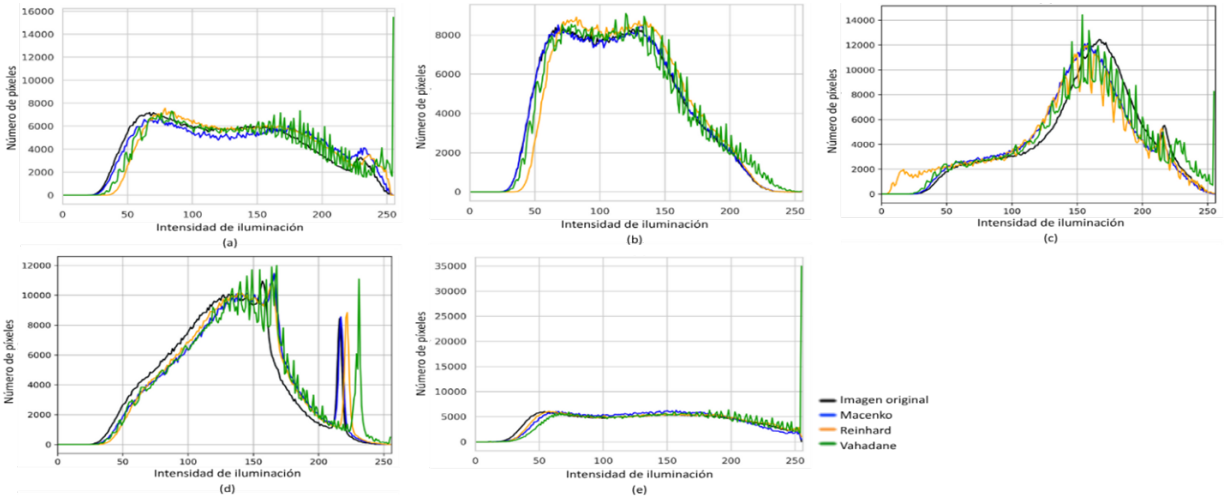


***Fig. 2.*** *Histograma obtenido para las imágenes de muestra*
*Source: Elaboración propia*

Cabe señalar que Macenko y Reinhard muestran valores de correlación consistentemente altos en todas las muestras, lo que sugiere que estos métodos producen resultados similares en la normalización del color. Vahadane, aunque es un método más avanzado, muestra una correlación más variable. En particular, en la muestra 5, la correlación es significativamente menor, lo que podría indicar que este método no se adapta bien a ciertos tipos de imágenes o tejidos[19].

La variabilidad en los valores de correlación sugiere que la elección del método de normalización puede depender del tipo de tejido o de las características específicas de la imagen. En términos de estadísticas descriptivas, Macenko tiene la media más alta, con un valor de 0,9628, y la desviación estándar más baja, con 0,0189, lo que indica que es el método más consistente y fiable en términos de correlación. Reinhard también muestra una media alta (0,9385) y una desviación estándar moderada (0,0316), lo que sugiere que es un método robusto[20], aunque ligeramente menos consistente que Macenko. Vahadane tiene la media más baja, con 0,8281, y la desviación estándar más alta (0,1811), lo que demuestra una mayor variabilidad en su rendimiento. Esto sugiere que, aunque puede funcionar muy bien en algunos casos (por ejemplo, en la muestra 2), en otros casos su rendimiento es significativamente menor (por ejemplo, en la muestra 5).

Del mismo modo, la figura 3 muestra los diagramas de caja para comparar las distribuciones de los métodos de normalización en las métricas ORB y SSIM. Para el análisis ORB, el método Macenko produce valores altos en algunas áreas y tiende a generar una distribución de color menos uniforme (alta dispersión). La mediana es ligeramente inferior a la de las otras técnicas y los valores de intensidad son más bajos, lo que afecta a la interpretación visual de las imágenes normalizadas. Además, su rendimiento es menos estable y consistente. Reinhard muestra una mediana ligeramente superior a la de Macenko y sus valores están más agrupados, lo que indica una mayor estabilidad en los resultados. Vahadane también presenta una mediana ligeramente alta y tiene menos dispersión que Macenko, lo que muestra una mayor consistencia. Por otro lado, en el análisis SSIM, Macenko presenta una mediana alta, lo que indica que, en la mayoría de los casos, las imágenes normalizadas son similares a la imagen de referencia.

Además, presenta una baja dispersión y no muestra variaciones significativas entre las imágenes, lo que demuestra una mayor consistencia. Reinhard mostró una mayor dispersión y las imágenes normalizadas varían más ampliamente, debido a su sensibilidad a las diferencias en las imágenes y a su dependencia de los valores estadísticos del color. El método no es tan consistente como el de Macenko y su rendimiento puede ser aceptable para algunas imágenes, pero menos eficaz para otras. En general, la calidad de la normalización con Reinhard es aceptable y no supera a la de Macenko. Por otro lado, Vahadane tiene una mediana cercana a la de Macenko y su dispersión es baja, lo que indica estabilidad entre los valores.

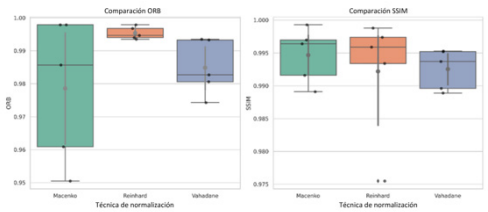


***Fig. 3.*** *Diagrama de caja de las métricas ORB y SSIM*
*Source: Elaboración propia*

## CONCLUSIONES

Se compararon tres técnicas de normalización del color, Macenko, Reinhard y Vahadane, en imágenes histopatológicas teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) de ganglios linfáticos con cáncer de mama. Para la evaluación, se utilizaron métricas de correlación de histogramas y similitud ORB y SSIM, que permiten medir la consistencia en la distribución del color y la similitud estructural entre las imágenes normalizadas y sus versiones originales. Los resultados obtenidos indican que Vahadane es la técnica con mejor rendimiento global, ya que presentó valores más altos y menor variabilidad en ORB y SSIM, lo que sugiere una mayor estabilidad y fidelidad en la preservación de las características morfológicas de los tejidos, lo cual es crucial para aplicaciones de análisis computacional, como la segmentación y clasificación automatizadas, donde la preservación de las estructuras celulares y tisulares contribuye a la precisión del modelo. Sin embargo, los resultados de la correlación del histograma mostraron que Vahadane presenta valores significativamente más bajos en comparación con Macenko y Reinhard. Si bien esta técnica conserva mejor la estructura y los patrones de textura de las imágenes, modifica más los tonos y la distribución del color, generando imágenes con diferencias cromáticas más significativas en comparación con el original. Por el contrario, Macenko y Reinhard conservan una mayor similitud en la distribución del color, pero con una ligera pérdida en la conservación de la estructura. La comparación proporciona información para mejorar la estandarización en el procesamiento de imágenes histopatológicas, lo que puede tener un impacto positivo en el diagnóstico asistido por ordenador y en el desarrollo de modelos de inteligencia artificial aplicados a la patología digital.

## REFERENCIAS

[1] C. Kaushal, S. Bhat, D. Koundal, and A. Singla, “Recent Trends in Computer Assisted Diagnosis (CAD) System for Breast Cancer Diagnosis Using Histopathological Images,” *IRBM*, vol. 40, no. 4, pp. 211–227, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.irbm.2019.06.001.

[2] S. yang Tang, L. Li, Y. lin Li, A. yuan Liu, M. jun Yu, and Y. ping Wan, “Distribution and location of Daxx in cervical epithelial cells with high risk human papillomavirus positive,” *Diagn Pathol*, vol. 9, no. 1, Jan. 2014, doi: 10.1186/1746-1596-9-1.

[3] F. Li, J. Ma, T. Wen, Z. Tian, and H. N. Liang, “HI-Net: A novel histopathologic image segmentation model for metastatic breast cancer via lightweight dataset construction,” *Heliyon*, vol. 10, no. 19, p. e38410, Oct. 2024, doi: 10.1016/J.HELIYON.2024.E38410.

[4] A. Agrawal and V. Maan, “Enhanced Brain Tumor Segmentation and Size Estimation in MRI Samples using Hybrid Optimization,” *Data and Metadata*, vol. 3, pp. 408–408, Jan. 2024, doi: 10.56294/DM2024408.

[5] G. A. Ansari, S. S. Bhat, M. D. Ansari, S. Ahmad, and H. A. M. Abdeljaber, “Prediction and Diagnosis of Breast Cancer using Machine Learning Techniques,” *Data and Metadata*, vol. 3, p. .346-.346, Sep. 2024, doi: 10.56294/DM2024.346.

[6] T. A. Azevedo Tosta, P. R. de Faria, L. A. Neves, and M. Z. do Nascimento, “Computational normalization of H&E-stained histological images: Progress, challenges and future potential,” *Artif Intell Med*, vol. 95, pp. 118–132, Apr. 2019, doi: 10.1016/J.ARTMED.2018.10.004.

[7] K. de Haan et al., “Deep learning-based transformation of H&E stained tissues into special stains,” *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41467-021-25221-2.

[8] M. Runz, D. Rusche, S. Schmidt, M. R. Weihrauch, J. Hesser, and C. A. Weis, “Normalization of HE-stained histological images using cycle consistent generative adversarial networks,” *Diagn Pathol*, vol. 16, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/s13000-021-01126-y.

[9] B. Zhao et al., “RestainNet: A self-supervised digital re-stainer for stain normalization,” *Computers and Electrical Engineering*, vol. 103, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.compeleceng.2022.108304.

[10] C. Franchet et al., “Bias reduction using combined stain normalization and augmentation for AI-based classification of histological images,” *Comput Biol Med*, vol. 171, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.compbiomed.2024.108130.

[11] T. A. A. Tosta, A. D. Freitas, P. R. de Faria, L. A. Neves, A. S. Martins, and M. Z. do Nascimento, “A stain color normalization with robust dictionary learning for breast cancer histological images processing,” *Biomed Signal Process Control*, vol. 85, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.bspc.2023.104978.

[12] J. Jeong, K. D. Kim, Y. Nam, C. E. Cho, H. Go, and N. Kim, “Stain normalization using score-based diffusion model through stain separation and overlapped moving window patch strategies,” *Comput Biol Med*, vol. 152, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.compbiomed.2022.106335.

[13] Z. Tabatabaei, F. Pérez Bueno, A. Colomer, J. O. Moll, R. Molina, and V. Naranjo, “Advancing Content-Based Histopathological Image Retrieval Pre-Processing: A Comparative Analysis of the Effects of Color Normalization Techniques,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 14, no. 5, Mar. 2024, doi: 10.3390/app14052063.

[14] E. Bütün, M. Uçan, and M. Kaya, “Automatic detection of cancer metastasis in lymph node using deep learning,” *Biomed Signal Process Control*, vol. 82, p. 104564, Apr. 2023, doi: 10.1016/J.BSPC.2022.104564.

[15] M. Veta, P. J. van Diest, R. Kornegoor, A. Huisman, M. A. Viergever, and J. P. W. Pluim, “Automatic Nuclei Segmentation in H&E Stained Breast Cancer Histopathology Images,” *PLoS One*, vol. 8, no. 7, p. e70221, Jul. 2013, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0070221.

[16] M. Macenko et al., “A method for normalizing histology slides for quantitative analysis,” Proceedings - 2009 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, ISBI 2009, pp. 1107–1110, 2009, doi: 10.1109/ISBI.2009.5193250.

[17] E. Reinhard, M. Ashikhmin, B. Gooch, and P. Shirley, “Color transfer between images,” *IEEE Comput Graph Appl*, vol. 21, no. 5, pp. 34–41, Sep. 2001, doi: 10.1109/38.946629.

[18] A. Vahadane et al., "Structure-Preserving Color Normalization and Sparse Stain Separation for Histological Images," *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 35, no. 8, pp. 1962–1971, Aug. 2016, doi: 10.1109/TMI.2016.2529665.

[19] A. Sethi et al., "Empirical comparison of color normalization methods for epithelial-stromal classification in H and E images," *J Pathol Inform*, vol. 7, no. 1, p. 17, Jan. 2016, doi: 10.4103/2153-3539.179984.

[20] S. Roy, S. Panda, and M. Jangid, "Modified Reinhard Algorithm for Color Normalization of Colorectal Cancer Histopathology Images," 2021 29th European Signal Processing Conference (EUSIPCO), pp. 1231–1235, Aug. 2021, doi: 10.23919/EUSIPCO54536.2021.9616117.

## FINANCIACIÓN

Ninguna

## CONFLICTOS DE INTERÉS

No existen

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Redacción - borrador original: Diego Andrés Castellano Carvajal, Sergio Alexander Castro Casadiego, Carlos Vicente Niño Rondón, Byron Medina Delgado.

Redacción - revisión y edición: Diego Andrés Castellano Carvajal, Sergio Alexander Castro Casadiego, Carlos Vicente Niño Rondón, Byron Medina Delgado.