

Segmentación de imágenes microscópicas con NSGA-II

R. Ochoa-Montiel, C. Sánchez-López, V.H. Carbajal-Gómez,
M.A. Carrasco-Aguilar, F.E. Morales-López, E. Juárez-Guerra

Universidad Autónoma de Tlaxcala, Apizaco,
México

{ma.rocio.ochoa,victhug26,macarras2010}@gmail.com, carlsanmx@yahoo.com.mx,
molf2503@hotmail.com, ever.juarezga@udlap.mx

Resumen. El presente trabajo aborda el problema de la segmentación multiobjetivo de imágenes microscópicas utilizando el algoritmo evolutivo NSGA-II. Durante el proceso de optimización se utilizan 2 funciones objetivo: la varianza entre-clase de Otsu y la entropía de Shannon. Un conjunto de 71 imágenes de células sanguíneas se incluyen en la fase de experimentación. A partir de éste conjunto se forman 3 categorías de imágenes: con preprocesamiento, sin preprocesamiento, y con ruido Gaussiano. Los resultados muestran que el uso de técnicas evolutivas multiobjetivo como NSGA-II, brindan resultados satisfactorios en la segmentación de más de una categoría de imágenes.

Palabras clave. Segmentación, optimización evolutiva, multiobjetivo, imágenes microscópicas.

Segmentation of Microscopic Images with NSGA-II

Abstract. This paper addresses the problem of multiobjective segmentation on microscopic images by using the evolutionary algorithm NSGA-II. Two objective functions are used at the optimization process: Otsu's inter-class variance and Shannon's entropy. A set of 71 images of blood cells are used. From this set, three categories of images are generated: with and without preprocessing, and images with Gaussian noise. Experimental results shown that the use of evolutionary multiobjective techniques like NSGA-II, give satisfactory results in the segmentation for more than one category of images.

Keywords. Segmentation, multiobjective evolutionary optimization, microscopic images.

1. Introducción

En el área médica la inspección visual de imágenes microscópicas¹ no solo proporciona información importante tanto cualitativamente como cuantitativamente ante la presencia de diversas patologías, también es útil para complementar exámenes de rutina aumentando la confiabilidad en el diagnóstico [1]-[3]. Particularmente, durante el análisis cualitativo de una imagen microscópica de células sanguíneas intervienen factores que pueden afectar su estudio e interpretación, tales como la calidad en la preparación de la muestra, o bien el cansancio y la falta de experiencia del especialista clínico. Respecto al análisis cuantitativo, aunque actualmente se dispone de tecnología especializada como los contadores hematológicos, su mayor desventaja es que no realizan un análisis visual de la imagen y su mecanismo de interpretación implica un tratamiento físico-químico de la muestra. Como una consecuencia, se destruye la muestra original. Además, la disponibilidad de dichos equipos y el costo de adquisición y mantenimiento, eleva los costos del examen de la muestra. Aunque existen métodos con alto grado de precisión para la identificación de los elementos de estudio [4], estos son poco accesibles por causas como disponibilidad geográfica o la falta de personal capacitado para usarla. Entre estos métodos se encuentran la citogenética y la biología molecular [5] así como la determinación del inmunofenotipo

¹En este trabajo, una imagen microscópica se refiere a imágenes de objetos microscópicos tales como: células, parásitos, bacterias, etc.

[6]. En los primeros se determinan alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales, en tanto que en el último se experimentan reacciones con antígenos específicos para la identificación del tipo de patología.

Con estos precedentes, el procesamiento digital de imágenes se distingue como una alternativa adecuada para el análisis de imágenes microscópicas en el área médica, lo cual se observa claramente en la basta cantidad de técnicas propuestas hasta el momento para la detección de patologías como la leucemia [10]-[14] o el análisis microscópico de tejidos [15]; en los cuales la interpretación visual es imprescindible para lograr la identificación de los objetos de estudio. En relación a las fases que componen el procesamiento digital de imágenes, una de las más importantes es la segmentación cuyo propósito es obtener las regiones de interés que permitan describir mejor la información en la imagen. Su importancia radica en que los resultados obtenidos durante esta fase determinan el éxito en etapas posteriores de procesamiento. Es importante mencionar que en algunas aplicaciones de visión artificial o tratamiento de imágenes, el proceso de segmentación es usado como una etapa de preprocesamiento; en otras no se utiliza y en otras se considera como una etapa independiente. Particularmente este trabajo, esta enfocado al último caso.

Dentro de los enfoques de segmentación más comúnmente utilizados se encuentran: la umbralización [1], [10], [11], [13]-[16], [18], [21]-[23], [25], [26], [29], [31], [37], el agrupamiento [1], [14], [16], [19], [24], [27]-[31], los bordes [10]-[13], [15]-[17], [20], [22]-[24], la textura [16], el crecimiento de regiones [15], [16] y los contornos activos [10], entre otros. En la Tabla 1 se muestra una revisión breve al respecto, en la cual se puede apreciar el uso de combinaciones de técnicas utilizadas en el proceso de segmentación de muestras biológicas. No obstante, en la mayoría de los casos expuestos, la segmentación es el producto de la aplicación de una secuencia de variantes pertenecientes a enfoques específicos. Esta manera de tratar a la imagen provoca que ciertos criterios de homogeneidad, tales como: nivel de gris, color o textura, sean favorecidas

en ciertas regiones de la imagen dejando en desventaja otros criterios que también deben ser cubiertos para lograr una segmentación adecuada. Idealmente, las regiones obtenidas de una segmentación deben ser uniformes y homogéneas con respecto a uno o varios criterios de homogeneidad; además, el interior de dichas regiones debe ser simple y sin muchos huecos pequeños. De igual manera, regiones adyacentes deben tener valores significativamente distintos con respecto al criterio de homogeneidad en el cual ellos son uniformes. Asimismo, los límites de cada segmento deben ser simples, espacialmente precisos y no irregulares [7].

Las técnicas de segmentación mostradas en la Tabla 1 difieren en la forma en la que enfatizan uno o más de los criterios de homogeneidad deseados en la imagen. De ésta manera, si se considera el nivel de gris como un criterio de homogeneidad, entonces, técnicas como Otsu (O) [37], umbralización global (UG) [18], mínimo error (ME) [15], gradiente (Gr) [16], canny (C) [20] o snake (S) [22], brindan resultados adecuados en imágenes con histogramas preferentemente bimodales, debido a que se basan en el análisis del histograma de la imagen o bien, en cambios bruscos en el nivel de gris de píxeles contiguos. Por lo tanto, al estar claramente separados en clases (i.e., modas del histograma), se facilita su agrupamiento. Por otra parte, técnicas basadas en agrupamiento o crecimiento de regiones como *K-means clustering* (KMC) [30], *fuzzy clustering* (FC) [29], *split merge* (SM) o *seeded region* (SR) [15] tienden a producir regiones irregulares causadas por el cálculo inadecuado del número de grupos (i.e; número de regiones) requerido al inicio del algoritmo respectivo. En este caso, otros criterios de homogeneidad como el color o la textura se encuentran en desventaja al no ser evaluados. Por otra parte, considerando que las técnicas pertenecientes a un mismo enfoque de segmentación utilizan procesos distintos para determinar las regiones de interés, la imagen producida es diferente en cada caso.

En este sentido, los algoritmos evolutivos multiobjetivo (*Multiobjective Evolutionary Algorithms* (MOEAs)) brindan una alternativa factible en el proceso de segmentación de imágenes al permitir

Tabla 1. Enfoques comunes de segmentación utilizados en imágenes microscópicas

| Enfoque | | | | | Técnica Utilizada | Tipo de Imagen | # Imágenes | % Eficiencia | Referencia |
|--------------|---------------|--------|---------|----------|---------------------------------|--------------------------------------|------------|--------------|------------|
| Agrupamiento | Umbralización | Bordes | Textura | Regiones | | | | | |
| X | X | X | X | X | ME, S, G, CxC, SR, SM | Tejido de carcinoma | 160 | 83 | [15] |
| | X | X | X | X | AW, Th, S, SRG, Gr, THu, FC, RC | Histológicas y citológicas | - | - | [16] |
| | | X | | | C, OM, D, LL | Leucocitos normales | 113 | - | [17] |
| X | X | | | | UG, MC | ALL, AML | - | - | [18] |
| | | | | | KRC | ALL | 165 | - | [19] |
| | | X | | | CC, So, C, D, HF | ALL (BD de ASH) | 80 | 98 | [20] |
| | X | | | | M, D | ALL-IDB2 | 75b, 65n | 89.72 | [21] |
| | X | X | | | O, S | Frotis sanguíneo | 128 | - | [22] |
| | X | X | | | propio | Frotis sanguíneo | 20 | 85 | [23] |
| | | X | | | C, D, E | ALL-IDB1 | 120 | 96.67 | [12] |
| | X | X | | | O, S | ALL, AML, CLL, CML | 90 | - | [13] |
| X | X | | | | KMC, UG | Leucocitos, eritrocitos plaquetas | 78 | 95.5 | [1] |
| | | X | X | | AZ, O, OM, AW, CA | Leucocitos normales y anormales | - | - | [10] |
| | X | X | | | O, FCM, Km, TW | Leucocitos anormales | - | - | [11] |
| X | | X | | | KNN, THu | Leucocitos | - | 92 | [24] |
| | X | | | | AZ | ALL-IDB1 | 108 | 92 | [25] |
| | X | | | | O | ALL-IDB1, ALL-IDB2 | 121 | 32 | [26] |
| X | | | | | O | Células de leucemia | - | - | [27] |
| X | | | | | SDM, Di, WC | ALL-IDB2 | 180 | 36.72 | [28] |
| X | X | | | | FC | Eritrocitos | - | 80 | [29] |
| | | | | | | leucocitos inmaduros | | | |
| X | | | | | KMC, MSA | AML | 6 frotis | - | [30] |
| X | X | | | | TW, Km, EH, AC, G | ALL | - | 73.7 | [14] |
| X | X | | | | O, TW, FCM | ALL | - | - | [31] |

CxC- Cruce por cero; AW- Algoritmos watershed; Th- Thresholding; SRG- SR growing; Gr- Grafos; THu- Transformada Hu; RC- Redes de convolución; OM- Operadores Morfológicos; D- Dilatación; LL- Llenado; MC- Mejora de contraste; KRC- Kernel induced rough C-means; CC- Clustering en color; So- Sobel; HF- Hole-filling; M- Manual; E- Erosión; AZ- Algoritmo Zack; CA- Contornos activos; FCM Fuzzy C-means; Km- K-means; TW- Transformada watershed; SDM- Estimulación de medidas discriminantes de vars; Di- Dispersión intra-entre clusters; WC- Watershed controlado; MSA- Mean-shift algorithm; AC- Ajuste de contraste; Ge- Geometría.

evaluar más de una técnica al mismo tiempo, evitando el uso secuencial o semi-secuencial de múltiples técnicas de segmentación. En el presente trabajo se hace uso de un MOEA llamado

NSGA-II (*Non Sort Genetic Algorithm*) propuesto en [32], el cual ha utilizado en la segmentación de imágenes. Por ejemplo, en [44] se propone un método de segmentación por umbralización

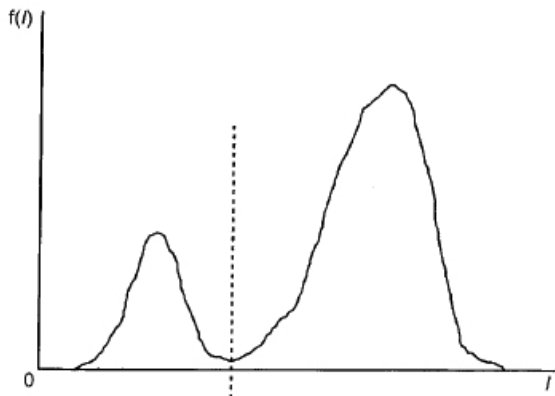


Fig. 1. Histograma ideal de los niveles de intensidad de gris en la imagen [33]

que utiliza como funciones objetivo la varianza intra-clase ajustada, la entropía de Shannon y la entropía bidimensional.

El método se probó con 3 categorías de imágenes. Sin embargo, aunque los resultados de segmentación obtenidos son relativamente buenos para imágenes con un bajo nivel de ruido, su mayor desventaja radica en que este método utiliza la varianza intra-clase ajustada y por lo tanto, el uso de recursos computacionales aumenta durante el proceso de optimización. Por otro lado, Mukhopadhyay et. al. describen en [8] un esquema de agrupamiento genético difuso multiobjetivo para la segmentación de imágenes de resonancia magnética. Este esquema utiliza NSGA-II para obtener los parámetros para un agrupamiento óptimo, demostrando finalmente la eficiencia de su método con respecto a otras técnicas existentes. Finalmente, Faceli et. al. [9] presentan un método para determinar el número de grupos óptimo para una segmentación por agrupamiento utilizando NSGA-II. El método es probado con distintos tipos de imágenes mostrando un desempeño eficiente.

A continuación se describen algunos puntos relevantes respecto al problema de la segmentación de imágenes, mientras que en la Sección 3 se presentan los fundamentos teóricos. Las Secciones 4 y 5 contienen los detalles del desarrollo y las pruebas realizadas. Finalmente, en la Sección 6 se muestran las conclusiones.

2. Antecedentes

El enfoque de umbralización en la segmentación de imágenes es una de las técnicas utilizadas con mayor frecuencia en el procesamiento de imágenes. En general, en una imagen que contiene objetos que sobresalen del fondo, las modas están bien definidas en sus histogramas. En la Figura 1 se muestra el caso de un histograma ideal, donde el valor mínimo de la distribución proporciona un nivel de intensidad de gris adecuado como valor de umbral (línea punteada). Además, la moda situada en la parte derecha de la Figura 1 representa el conjunto de píxeles más claros, mientras que la moda situada en la parte izquierda de la figura corresponde a los píxeles más oscuros.

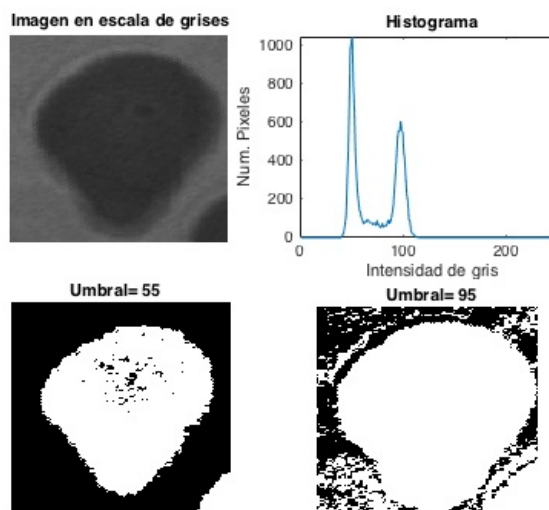


Fig. 2. Caso de segmentación por umbralización de un eritrocito anormal. Sup.-Izq. Imagen original en escala de grises. Sup.-Der. Histograma de la imagen. Inf.-Izq. Segmentación con un valor de umbral de 55, Inf.-Der. Segmentación con un valor de umbral de 95

Las técnicas de umbralización se basan en suponer que existe un solo objeto sobre un fondo uniforme, constituyendo una alternativa útil en esquemas de ajuste de iluminación o en el proceso de eliminación de fondos, lo cual puede simplificar las fases subsecuentes en el análisis de la imagen [33]. En la umbralización se considera la intensidad del nivel de gris en la imagen u

otro atributo de los píxeles, de tal forma que al no tomar en cuenta la coherencia espacial de la región, es común que dos píxeles separados en la imagen puedan pertenecer a la misma región si sus atributos son similares. La Figura 2 presenta la segmentación de una imagen con distintos valores de umbral, haciendo evidente la importancia en el proceso de la determinación del valor adecuado (umbral) en el histograma para la separación de regiones.

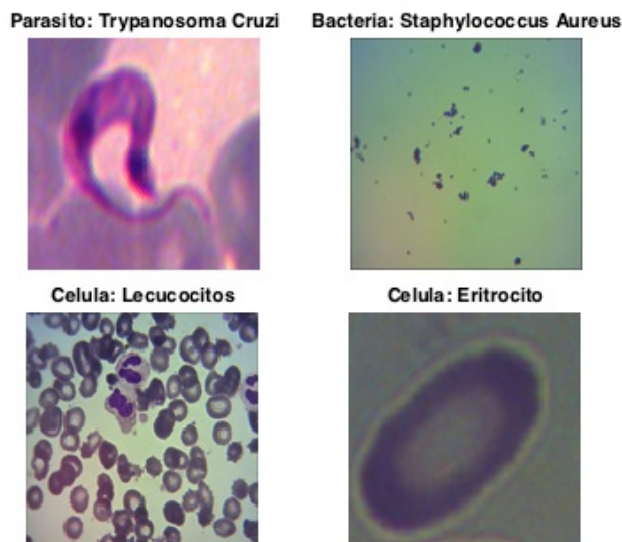


Fig. 3. Imágenes microscópicas

Un aspecto importante en la segmentación de imágenes es el criterio de uniformidad. En el caso del enfoque de umbralización, generalmente corresponde al nivel de intensidad de gris en la imagen. No obstante otros criterios que pueden regir el proceso de segmentación son: la brillantez, el color, la textura e incluso el movimiento. En el caso específico de imágenes con objetos grandes que presentan pocos detalles en su superficie, la segmentación implica dividir la imagen en regiones, donde cada región tiene un alto grado de uniformidad previamente establecido. Desafortunadamente, las necesidades existentes en el mundo real requieren satisfacer diversos criterios de uniformidad a un mismo tiempo para lograr resultados satisfactorios en el proceso de segmentación haciendo difícil encontrar un

punto de equilibrio en el cumplimiento de los criterios requeridos. En el caso de las imágenes microscópicas que contienen objetos de interés tales como células, parásitos o bacterias, el enfoque de umbralización es útil debido a que en la mayoría de los casos los objetos a identificar resaltan con respecto al fondo, como se puede observar en la Figura 3. De ésta manera, obtener una sola región resulta útil para seleccionar el objeto de interés, o bien el fondo.

Como se ha mencionado anteriormente, si se considera la distribución de los niveles de gris como el criterio de uniformidad para llevar a cabo la segmentación, entonces el problema consiste en encontrar el valor de nivel gris o umbral que permita separar adecuadamente las modas en el histograma de la imagen, como se ilustra en la Figura 1. Por lo tanto, el conjunto de píxeles dentro del rango determinado por el umbral obtenido tiene niveles de gris similares y de esta manera, estos píxeles conforman una región de interés. Existen diversos métodos de segmentación por umbralización, en [34]-[36] se puede encontrar una amplia revisión al respecto. Algunas técnicas clásicas de este enfoque son el método de Otsu [37], la entropía entre clases [38], [39] y la umbralización del mínimo error [40]. Cada una de ellas trata la información del histograma de una forma distinta para obtener los valores de umbral, favoreciendo algunos criterios para ciertas categorías de imágenes y disminuyendo otros.

Por otra parte, el desempeño de los métodos se ve afectado cuando el histograma de la imagen no tiene modas claramente definidas o bien la cantidad de éstas aumenta, haciendo más difícil determinar la posición de picos y valles. Estas características típicamente corresponden a imágenes con ruido o con leves cambios en sus niveles de gris (ver Figura 4). Por lo tanto, la variación en el proceso del cálculo de los umbrales y la presencia de varios picos en el histograma hace difícil encontrar los valores óptimos de umbral.

Una alternativa útil para abordar la problemática antes descrita es el uso de MOEAs. Los enfoques de cómputo evolutivo, inspirados por la evolución natural, hacen uso de operadores evolutivos comunes como: la selección, cruce y mutación;

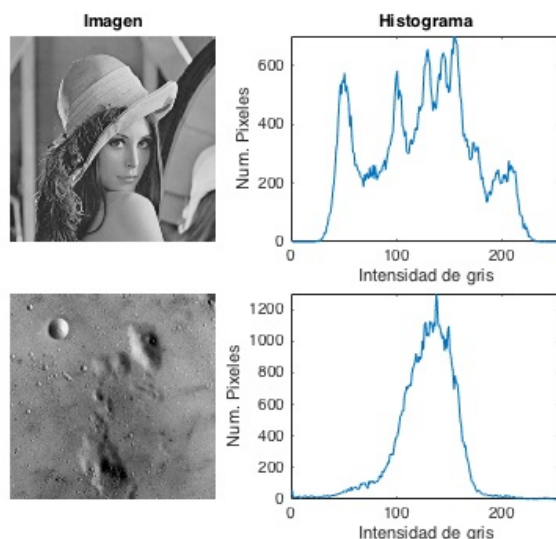


Fig. 4. Ejemplo de imágenes con histogramas que presentan varios picos y modas no bien definidas [41]

esto significa que a partir de una población de soluciones candidatas (individuos), se sigue un proceso de reproducción recomblando las soluciones existentes para generar nuevas soluciones. Por lo tanto, los procesos de selección de padres y los mecanismos de supervivencia inspirados en la evolución natural, permiten obtener un subconjunto de soluciones óptimas del problema en una sola ejecución [42]. En síntesis, las técnicas evolutivas son técnicas estocásticas que generan rápidamente una partición razonablemente óptima y garantizan la convergencia a una partición óptima asintóticamente [43].

La complejidad que caracteriza al proceso de segmentación de imágenes, hace que la consideración y evaluación de varios criterios simultáneamente denoten una mayor percepción de los compromisos existentes entre ellos. De tal forma que, obtener un conjunto de soluciones no dominadas implica un proceso de optimización multiobjetivo. Las técnicas de optimización multiobjetivo, algoritmos evolutivos y bio-inspirados han demostrado resultados satisfactorios en la segmentación de imágenes [43]-[45]. Entre los criterios de umbralización reportados en la literatura y con más frecuencia utilizados están: la varianza entre clases, la entropía, la probabilidad

global de error y el método de ajuste de curvas Gaussianas [46]-[49]. Además, como es de esperarse, el consumo de recursos para el cálculo de cada criterio es distinto. En [50] se puede encontrar un caso aplicado para la segmentación de imágenes de eritrocitos, donde se evalúan los criterios de varianza intra-clase versus entropía y varianza entre-clase versus entropía, demostrando que la segunda combinación presenta un mejor desempeño respecto al uso de recursos computacionales en la evaluación de las funciones objetivo.

3. Fundamentos

3.1. Optimización multiobjetivo evolutiva

Los enfoques más comunes para resolver problemas de optimización multiobjetivo con algoritmos evolutivos son: métodos de agregación y las técnicas de población basadas en Pareto y no-Pareto [51]. En el presente trabajo se hace uso de una técnica de Pareto, cuyo mecanismo para la selección de la solución se basa en el concepto de dominancia de Pareto [52]. No obstante, independientemente del enfoque utilizado, un problema de optimización multiobjetivo generalmente tiene la forma [53]:

$$\begin{aligned} \text{Max./Min.} &= \{f_1(x), f_2(x), \dots, f_k(x)\}, \\ &\text{sujeto a } x \in S, \\ &x_i^L \leq x_i \leq x_i^U, \end{aligned} \quad (1)$$

donde $k \geq 2$ denota a las funciones objetivo $f_i: R^n \rightarrow R$ que se desean maximizar/minimizar simultáneamente. Los vectores o variables de decisión $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)^T$ pertenecen a la región factible no vacía $S \subset R^n$ y restringen su valor dentro de un límite inferior y superior. En este caso particular, no se incluyen funciones de restricción, las cuales también están asociadas con la región factible.

El valor de cada función objetivo depende del vector de variables de decisión. De esta forma, el vector de funciones objetivo es denotado como: $z = f(x) = (f_1(x), f_2(x), \dots, f_k(x))^T$. Por lo tanto, la región factible en el espacio objetivo es denotada como $Z = f(S)$. En optimización multiobjetivo, los

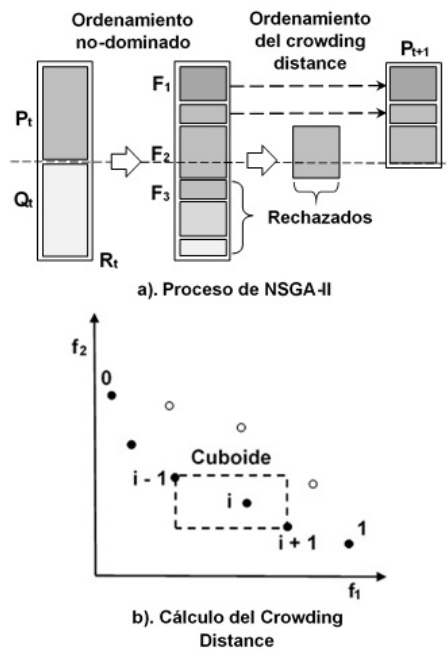


Fig. 5. Funcionamiento de NSGA-II

vectores objetivo son referidos como óptimos si ninguno de sus componentes puede ser mejorado sin deteriorar al menos uno de los otros componentes. Formalmente, un vector de decisión $x' \in S$ es llamado óptimo de Pareto si no existe otro $x \in S$ tal que $f_i(x) < f_i(x')$ para todas las $i=1, \dots, k$ y $f_j(x) < f_j(x')$ para al menos un índice j . De esta manera, un vector objetivo es óptimo de Pareto si el vector de decisión correspondiente es óptimo de Pareto. Así, el conjunto de vectores objetivo óptimos de Pareto puede ser denotado por $P(Z)$. El conjunto de soluciones óptimas de Pareto es un subconjunto de las soluciones óptimas de Pareto débilmente.

Un vector de decisión $x' \in S$ es un óptimo de Pareto débilmente si no existe otro $x \in S$ tal que $f_i(x) < f_i(x')$ para todos los $i=1, \dots, k$. Los rangos de las soluciones óptimas de Pareto en la región objetivo factible brindan información acerca del problema si las funciones objetivo están delimitadas sobre la región factible. Los límites bajos del conjunto óptimo de Pareto están disponibles en el vector objetivo ideal $z^* \in R^k$, sus componentes z_i^* se obtienen al minimizar

cada una de las funciones objetivo individualmente sujetas a la región factible. Los límites superiores del conjunto óptimo de Pareto no tienen un método certero para su cálculo en problemas no lineales, aunque puede ser estimado utilizando una tabla de resultados. Debido a que los vectores no pueden ser ordenados completamente, todas las soluciones óptimas de Pareto pueden ser referidas como igualmente deseables en el sentido matemático y en el caso de requerir solo una solución (individuo) se sugiere utilizar una técnica posterior para la selección dentro de éste conjunto. En [54], [55] se analizan algunas técnicas para este propósito.

3.2. Algoritmo genético de ordenamiento no dominado (NSGA-II)

NSGA-II es uno de los métodos de optimización multiobjetivo evolutiva más utilizado [53]. Se caracteriza por encontrar múltiples soluciones óptimas de Pareto, seguir un principio elitista, utilizar un mecanismo explícito de preservación de la diversidad y hacer énfasis en las soluciones no dominadas. La Figura 5 muestra el esquema general de NSGA-II y su funcionamiento detallado se describe a continuación. En cualquier generación t , la población descendiente Q_t , se crea utilizando la población padre P_t haciendo uso de los operadores genéticos comunes mencionados en la sección 2. Posteriormente, las poblaciones Q_t y P_t son combinadas para formar una nueva población R_t , de tamaño $2N$. Esta población R_t es clasificada en distintas clases de no-dominación. Más adelante, la nueva población es completada por puntos de diferentes frentes de no-dominación al mismo tiempo. El llenado comienza con el primer frente de no-dominación o clase 1 y continúa con puntos del segundo frente de no-dominación, y así sucesivamente. A partir de que el tamaño de la población global de R_t es $2N$, no todos los frentes pueden ser acomodados en N localidades disponibles para la nueva población. Todos los frentes que no puedan ser acomodados son borrados. Cuando el último frente está siendo considerado, pueden existir más puntos en el frente que localidades disponibles en la nueva población. La elección de los miembros que

conforman el último frente se hace de acuerdo a su diversidad, siendo los puntos que conformen una mayor diversidad los elegidos. Es decir, la multitud de puntos del último frente que no pudieron ser acomodados completamente es llevado a cabo en orden descendente de sus valores de *crowding distance*, y los puntos del tope de la lista ordenada son elegidos. El *crowding distance* d_i del punto i es una medida del espacio objetivo alrededor de i , el cual no es ocupado por alguna otra solución en la población. Por lo tanto, se calcula la cantidad d_i , al estimar el perímetro del cuboide formado al usar los vecinos más cercanos en el espacio objetivo, como sus vértices.

3.3. Enfoques de segmentación

Los métodos de segmentación se pueden clasificar en enfoques paramétricos y no paramétricos. En el primer caso, se trata de ajustar el histograma de la imagen a una suma de distribuciones Gaussianas y posteriormente encontrar los umbrales óptimos en las intersecciones de estas Gaussianas. La desventaja de este enfoque es evidente para el caso de histogramas unimodales, donde al no existir valles resulta imposible localizar el umbral. En los enfoques de segmentación no paramétricos el cálculo de umbrales no requiere algún tipo de ajuste de parámetros, siendo el análisis de discriminantes [39] o la entropía [37], algunos de los métodos más utilizados y cuyo fin es maximizar la separabilidad de las clases. La segmentación por umbralización consiste en encontrar un valor de umbral que permita separar las regiones de interés en la imagen. En el caso de un solo valor de umbral se denomina segmentación binivel y la imagen de salida consiste en 2 regiones: objetos de interés y fondo. Cuando se obtienen 2 o más valores de umbral T la segmentación es llamada multinivel, y el número de regiones de interés obtenidas es igual a $T-1$. El ajuste automático del valor de umbral es uno de los retos principales en la segmentación de imágenes. Las diferencias en el tratamiento de la información del histograma, el caso de umbralización multinivel y la satisfacción de las propiedades de una buena segmentación propuestas por [56], hacen difícil el desarrollo de técnicas de segmentación

robustas y aplicables a un amplio dominio de imágenes. Por otra parte, en la umbralización multinivel, el cálculo de los umbrales se hace más complicado conforme el número de umbrales aumenta, y los valores obtenidos por los métodos antes mencionados son poco certeros, además su desempeño se ve afectado por el tamaño de las imágenes [57].

Por otra parte, satisfacer todas las propiedades de una segmentación adecuada al mismo tiempo contrapone algunas de ellas, por ejemplo: regiones homogéneas y uniformes no solo tienen muchos agujeros pequeños sino también límites irregulares. Así, regiones adyacentes pueden ser mezcladas y los límites entre esas regiones se pierden [56]. Estos factores propician que las técnicas existentes sean útiles en dominios limitados y condiciones de adquisición de imágenes preferentemente controladas. En nuestro caso particular se hace uso del enfoque no paramétrico utilizando como funciones objetivo: la varianza entre-clase de Otsu y la entropía.

3.3.1. Varianza entre-clase de Otsu

El cálculo de la varianza intra-clase de Otsu tiene su fundamento en el análisis de discriminantes (o medidas de separabilidad de clase) [59]. El método sugiere maximizar la suma ponderada de las varianzas entre-clase de los píxeles del fondo y del objeto para establecer un umbral óptimo. Cabe decir que el mismo efecto se obtiene al minimizar la dispersión intra-clase y como es de suponerse, el método proporciona resultados satisfactorios cuando la cantidad de píxeles en cada clase es similar [34].

Para definir las varianzas intra-clase y entre-clase, permítanos considerar que los niveles de gris L en una imagen I sean representados por $[1, 2, \dots, L]$, mientras que la cantidad de píxeles en el nivel de gris i es denotada por n_i . Siendo N el número total de píxeles, el histograma es normalizado y considerado como una distribución de probabilidad $p_i = n_i/N$. Para el caso de umbralización binivel, los píxeles se separan en dos clases por un umbral determinado por un nivel de gris t , con lo cual se asume que los píxeles con niveles de gris $[1, \dots, t]$ pertenecen

al fondo, mientras que los píxeles con los niveles $[t+1, \dots, L]$ pertenecen al objeto de interés. Por lo tanto, las varianzas de clase son definidas como:

$$\sigma_0^2 = \sum_{i=1}^t (i - \mu_0)^2 p_i / \omega_0, \quad (2)$$

$$\sigma_1^2 = \sum_{i=t+1}^L (i - \mu_1)^2 p_i / \omega_1, \quad (3)$$

donde:

$$\omega_0 = \sum_{i=1}^t p_i \quad \omega_1 = \sum_{i=t+1}^L p_i, \quad (4)$$

$$\mu_0 = \sum_{i=1}^t i p_i / \omega_0 \quad \mu_1 = \sum_{i=t+1}^L i p_i / \omega_1. \quad (5)$$

Las medidas de separabilidad de las clases (o medidas de criterio discriminante) se obtienen de la siguiente forma a partir del análisis de discriminantes:

$$\sigma_W^2 = \omega_0 \sigma_0^2 + \omega_1 \sigma_1^2, \quad (6)$$

$$\sigma_B^2 = \omega_0 \omega_1 (\mu_1 - \mu_0)^2. \quad (7)$$

La ecuación (6) es la varianza intra-clase mientras que (7) es la varianza entre-clase. A partir de esto, se observa que (6) requiere mayores recursos computacionales. La media total de la imagen original se define como:

$$\mu_T = \sum_{i=1}^L i p_i. \quad (8)$$

De esta manera, el umbral óptimo t_* que maximiza (7) y el umbral óptimo t_* que minimiza (6) pueden utilizarse como criterios de umbralización. En nuestro caso se utiliza (7), el cual finalmente se define como:

$$\sigma_B^2(t^*) = \max \sigma_B^2(t). \quad (9)$$

3.3.2. Entropía

Similarmente como la varianza entre-clase de Otsu, otra técnica para obtener el umbral de una imagen, es el uso de la entropía de la distribución de los niveles de gris; es decir, del grado de incertidumbre de los datos del histograma. De esta manera, si la entropía es la cantidad de información promedio que contienen los datos, entonces los niveles de gris con menor probabilidad son los que aportan mayor información. Cuando los datos son igualmente probables, todos aportan información relevante y la entropía es máxima [60]. Algunos autores sugieren que la maximización de la entropía de la imagen umbralizada es un indicativo de la máxima transferencia de información [38], [61]-[64]. En otros casos, la perspectiva consiste en tratar de minimizar la entropía cruzada entre la imagen de entrada en nivel de gris y la imagen de salida binaria como indicativo de preservación de la información [65]-[68], o bien como una medida de entropía difusa [69], [70].

Dentro de las primeras aplicaciones de la entropía a la umbralización de imágenes se encuentran [71], [72], donde se hace uso de la entropía de Shannon [60] para determinar los umbrales. Para definir el concepto de entropía de una imagen I , es preciso considerar el histograma de probabilidad de primer orden en una imagen, asumiendo que todos los símbolos son estadísticamente independientes. Bajo esta suposición, la entropía (en el sentido de Shannon) de una imagen esta dada por:

$$H = - \sum_{i=0}^L p_i \log_2 p_i, \quad (10)$$

donde $L + 1$ es el número de niveles de gris y p_i la probabilidad de ocurrencia del nivel i . En el caso de umbralización binivel, se definen 2 clases. La primera clase A corresponde a los niveles de gris mas bajos que el valor de umbral t , mientras que la segunda clase B corresponde a los niveles mayores que t . Considerando que el fondo y los objetos en la imagen tienen densidades de probabilidad independientes, se define p_A y p_B como las probabilidades acumuladas de las clases

A y B . De esta manera, la entropía para cada clase es:

$$H^t(A) = - \sum_{i=1}^t \frac{p_i}{p_A} \log_2 \frac{p_i}{p_A}, \quad (11)$$

$$H^t(B) = - \sum_{i=t+1}^L \frac{p_i}{p_B} \log_2 \frac{p_i}{p_B}. \quad (12)$$

Así la entropía total de una imagen I esta dada por:

$$H^t(I) = H^t(A) + H^t(B). \quad (13)$$

Con estas consideraciones, el valor óptimo de umbral es aquel que maximiza la entropía total definida en (13). Por lo tanto, el umbral queda definido como un problema de optimización por:

$$t^* = \min_{1 \leq t \leq L} (-H^t(I)). \quad (14)$$

4. Formulación del problema

Como se ha mencionado, el propósito de segmentar una imagen no es mas que agrupar los pixels que la componen en función de algún criterio de homogeneidad, de tal forma que como producto de la segmentación se obtengan regiones homogéneas distintas de acuerdo a los grupos de pixels que cumplan con dicho criterio. Este proceso de asignar los pixels que representan patrones de una cierta región requiere de un proceso de selección que generalmente contempla varias alternativas.

La formulación de la segmentación como un problema multiobjetivo permite evaluar de manera simultánea las alternativas consideradas para el agrupamiento de los pixeles. Comúnmente las opciones a evaluar estan en conflicto, siendo algunos ejemplos: maximizar la conectividad o minimizar el error del clasificador utilizado para la evaluación de la segmentación [43]. La consideración de esta combinación de alternativas es compleja, así el enfoque de optimización multiobjetivo es una técnica apropiada para resolver este problema.

Por otra parte, para segmentar una imagen usando el enfoque de umbralización existen diferentes técnicas, tales como la varianza entre-clase de Otsu, la entropía o las mezclas Gaussianas. Sin embargo, usualmente cada técnica proporciona un valor de umbral distinto, provocando diferencias en la cantidad de regiones obtenidas en la imagen de salida. En este trabajo se propone realizar una segmentación binivel con un enfoque de umbralización no paramétrico, utilizando como funciones objetivo la varianza entre-clase de Otsu y la entropía, de tal forma que el propósito es encontrar el valor de umbral adecuado que permita optimizar ambos objetivos. Por lo tanto, una vez optimizados los objetivos, se genera el frente de Pareto, el cual representa las soluciones no dominadas de las funciones objetivo. Cabe resaltar que el frente de Pareto también representa una manera simple de observar el compromiso entre las funciones objetivo, facilitando la toma de decisión en caso de requerir el uso de una única solución. Para comenzar con la formulación del problema de segmentación, a partir de (1) tenemos que:

$$\begin{aligned} f(t) &= [f_1(t), f_2(t), \dots, f_n(t)], \\ \text{con } t &= \{t_1, t_2, \dots, t_m\} \in T, \\ \text{sujeto a: } & 0 < t_1 < \dots < t_{i-1} < L, \end{aligned} \quad (15)$$

donde n denota el número de funciones objetivo, t es un vector de m variables de decisión donde cada variable restringe su valor dentro de un límite inferior > 0 , y un límite superior $< L$. L representa el número de niveles de gris en la imagen, es decir 255. En este caso, al no existir restricciones, las soluciones que satisfacen los límites definidos constituyen un espacio de decisión factible T . Las funciones a optimizar son (9) y (14). Para generar el frente de Pareto, y como una consecuencia el conjunto de umbrales sub-óptimos, se utiliza el algoritmo NSGA-II [32]. El tamaño de la población inicial es de 24 individuos, lo que representa aproximadamente el 10% del espacio de búsqueda. Con base en [50], al aumentar la cantidad de individuos asociados a una categoría de imágenes, el desempeño no mejora. Con base en los resultados experimentales mostrados en [50], el número de generaciones se ajustó

a 100. Cabe subrayar que este número no necesariamente debe ser el mismo y uno puede aumentar o disminuir el número de generaciones.

5. Resultados experimentales

Las imágenes utilizadas para el desarrollo del presente trabajo corresponden a glóbulos rojos anormales (dracriocitos). Los frotis sanguíneos preparados con una tinción de Giemsa fueron proporcionados por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Las imágenes fueron adquiridas con ayuda de una cámara digital de 1.3 megapíxeles, la cual fue montada en un microscopio óptico y vistas con una precisión de 100X. La resolución de las imágenes fue ajustada a 128x128 píxeles y en ellas se puede apreciar una o más células del mismo o de distinto tipo, como se muestra en la Figura 6.

La selección de los ejemplares de interés (dracriocitos) se realizó manualmente validándose por un experto del área clínica. De ésta manera se obtuvo un total de 71 imágenes. Es importante subrayar que NSGA-II está codificado en C [32], y una vez obtenido el conjunto de umbrales sub-óptimos, el proceso de umbralización se realizó en Matlab V.7. La ejecución fue en un CPU core i7 con 8Mb de memoria.

Dado que la umbralización realizada es binivel, atendiendo la sugerencia de [39], se optó por utilizar solo el canal G de la imagen debido a que este presenta un mejor contraste, como se vislumbra en la Figura 7.

El diagrama mostrado en la Figura 8 muestra las fases de la propuesta. El proceso de umbralización se llevó a cabo con tres conjuntos de imágenes. El primero está formado por las imágenes capturadas sin aplicar algún tipo de pre-procesamiento. El segundo conjunto corresponde a las imágenes obtenidas después de aplicar un filtro Gaussiano para eliminar ruido Gaussiano, dado que generalmente las imágenes adquiridas adquieren cierta cantidad de ruido Gaussiano caracterizado por pequeñas variaciones en la imagen y su origen radica en las diferentes ganancias del sensor, el ruido en la digitalización, etc [73]. El preprocesamiento consistió en aplicar un filtro Gaussiano de paso bajo de tamaño [3 3] y

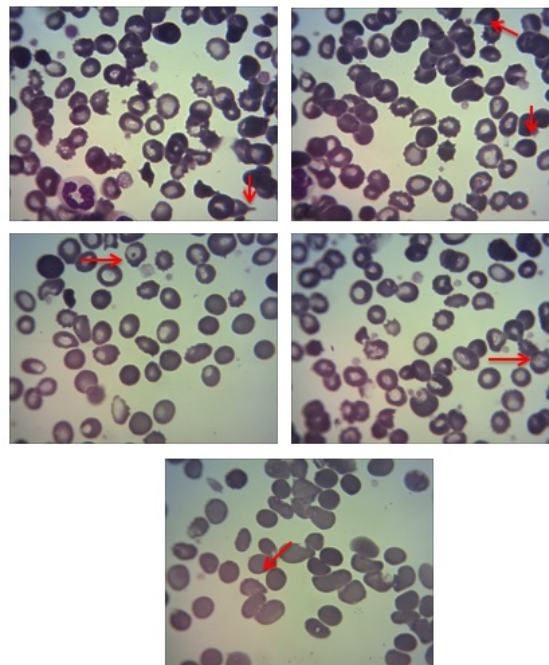


Fig. 6. Imágenes adquiridas. Las flechas señalan a las células de interés (dracriocitos), caracterizados por una ligera protuberancia en un extremo

desviación estándar (sigma) 0.5. En el tercer conjunto se utiliza un grupo de imágenes a las cuales se agregó ruido Gaussiano con parámetros media 0 y varianza 0.01. La Figura 9 presenta imágenes correspondientes a cada una de estas categorías, tres ejemplos por columna.

En otro punto, para distinguir el compromiso existente entre las funciones objetivo definidas en (9) y (14), la Figura 10 muestra la representación gráfica de la varianza entre-clase de Otsu así como de la entropía obtenidas para la primera imagen de la Figura 9.

En el caso de la varianza entre-clase de Otsu, el valor máximo es alcanzado en la posición 77, mientras que para la entropía este se obtiene en la posición 80. Esto provoca salidas distintas en la segmentación generando efectos que se hacen más evidentes en las imágenes con ruido, como se observa en la Figura 11, en la cual la diferencia en el valor del umbral obtenido por cada método difiere en más de 20 unidades. Considerando que el espacio de búsqueda es de

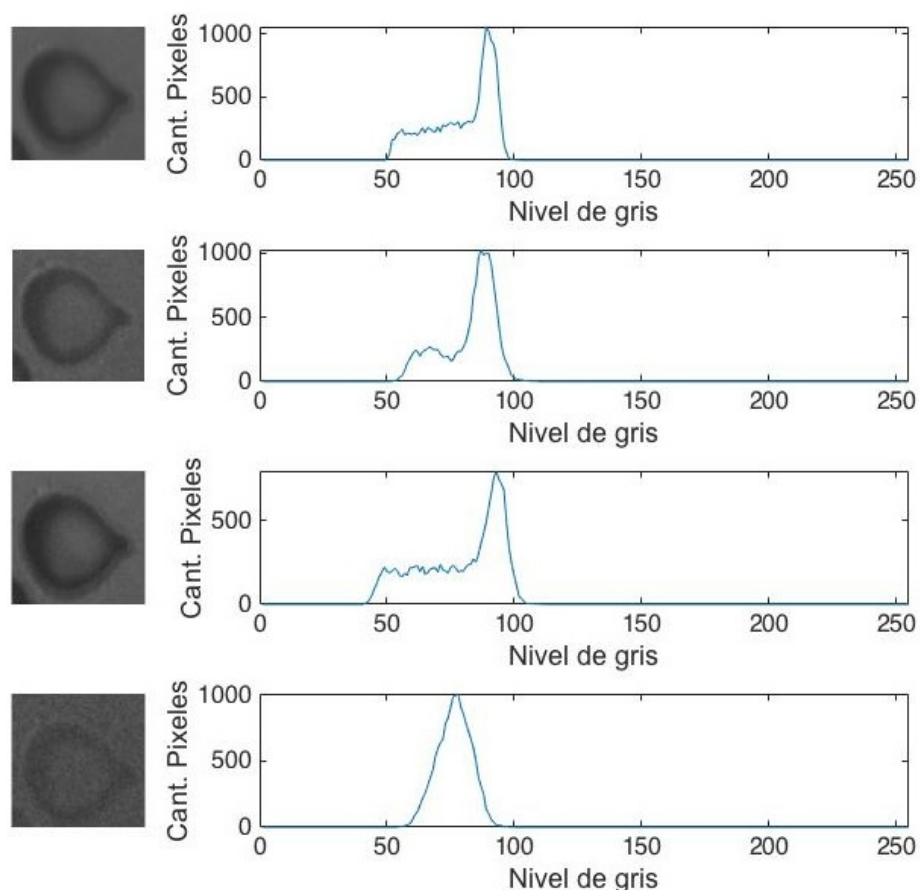


Fig. 7. Imágenes: escala de gris (fila 1), canal R, G y B, respectivamente en filas 2 a 4. A la derecha, histograma de cada imagen

256 elementos, el efecto en la segmentación final es significativamente distinto.

Por otra parte, para generar los frentes de Pareto que proporcionan los umbrales óptimos al evaluar las funciones objetivo: varianza entre-clase de Otsu y entropía, se utiliza NSGA-II con cada conjunto de imágenes por separado, es decir; las imágenes sin preprocesamiento, las que incluyen preprocesamiento y las que tienen ruido Gaussiano.

En las Figuras 12, 13 y 14 se muestran los frentes de Pareto generados para 10 imágenes de cada categoría, respectivamente. Por limitaciones de espacio, no se incluyen los frentes de Pareto de las 183 imágenes restantes.

En la Tabla 2 se muestran los valores de umbral para la segmentación de 10 imágenes obtenidos por NSGA-II a partir del conjunto de Pareto para cada categoría de imágenes. Para evaluar la segmentación y considerando que los elementos que constituyen el conjunto de Pareto representan las soluciones óptimas (umbrales), se tomaron tres elementos del conjunto en los casos que tuvieran 3 o más elementos dentro del conjunto de Pareto.

Estos elementos fueron los 2 de los extremos (izquierdo y derecho) y el situado en la parte media del conjunto. Así, por ejemplo en el caso de la imagen 1 del grupo de imágenes sin preprocesamiento fueron utilizados los valores 81, 87 y 95 (izq, med, der).

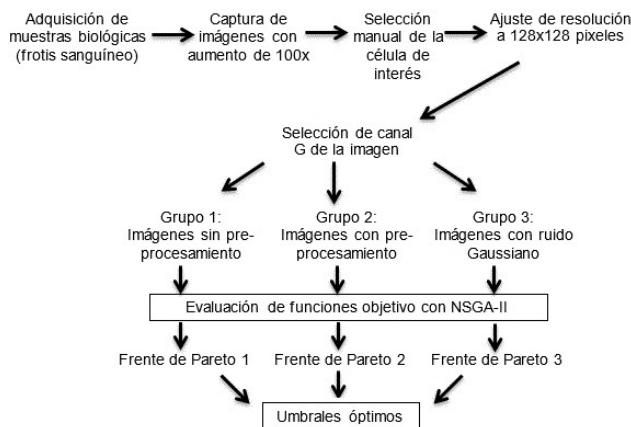


Fig. 8. Diagrama general de la propuesta

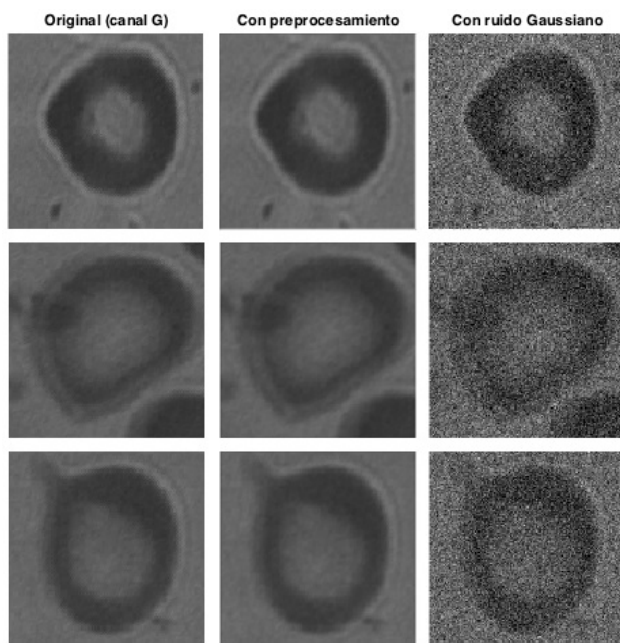


Fig. 9. Ejemplos de las categorías de imágenes utilizadas

En las Tablas 3, 4 y 5 se enlistan los umbrales seleccionados para 10 imágenes. Estos corresponden a los umbrales seleccionados a partir del conjunto de Pareto generado por NSGA-II para cada imagen, y a las funciones objetivo varianza entre-clase de Otsu y entropía.

En las Figuras 15, 16 y 17 se pueden observar los resultados de la segmentación con los valores

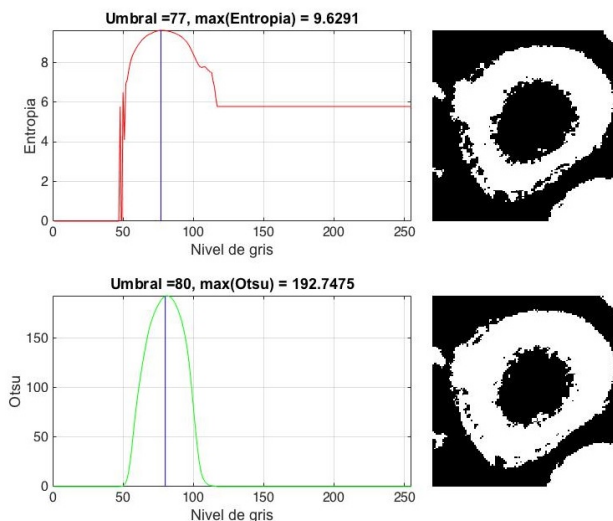


Fig. 10. Compromisos entre las funciones objetivo entropía y varianza entre-clase de Otsu. La línea azul representa la ubicación del valor de umbral. A la derecha se observan los efectos de la umbralización para entropía y varianza entre-clase de Otsu, respectivamente

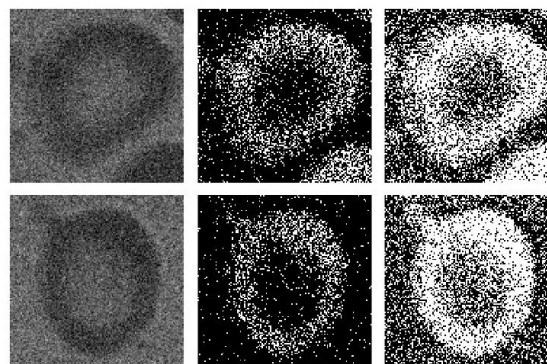


Fig. 11. Segmentación de imágenes con ruido. Columna 2.- con entropía, umbrales: img1= 54, img2= 62. Columna 3: con varianza entre-clase de Otsu, umbrales: img1= 80, img2= 86

de umbral mostrados en las Tablas 3, 4 y 5, respectivamente. En todos los casos, las imágenes que aparecen en negro dentro de la respectiva figura representan la ausencia de un umbral, por lo que no existe salida visible.

Para evaluar el desempeño de la segmentación en cada caso se utilizó el *Peak Signal to Noise*

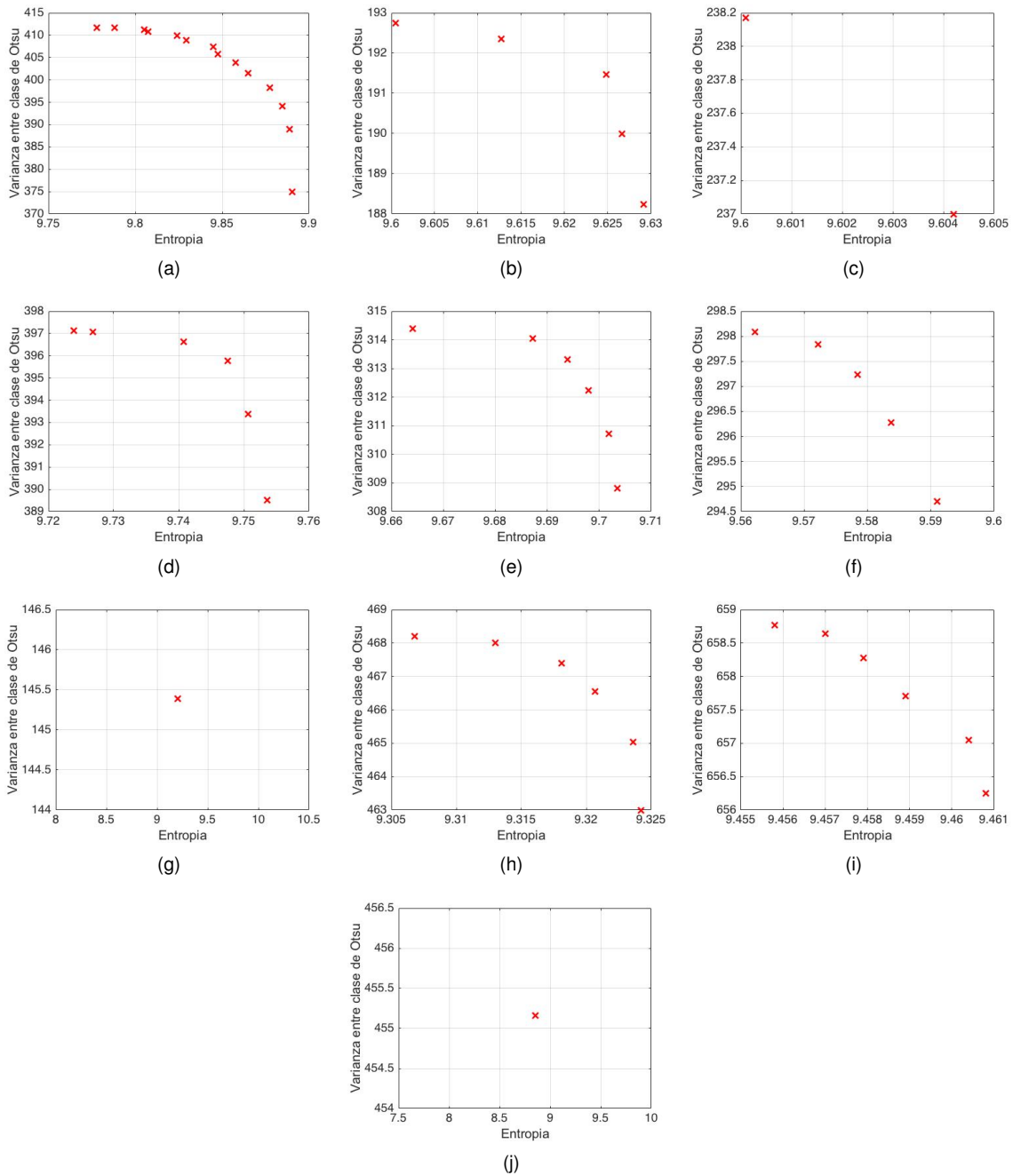


Fig. 12. Frentes de Pareto de imágenes sin preprocesamiento

Ratio (PSNR), un método de evaluación no supervisado cuyo propósito es obtener una medida cualitativa de la imagen segmentada. Un valor

alto de PNSR significa que la imagen es mejor cualitativamente. Las ecuaciones utilizadas para su cálculo están dadas en [45]. En las Tablas

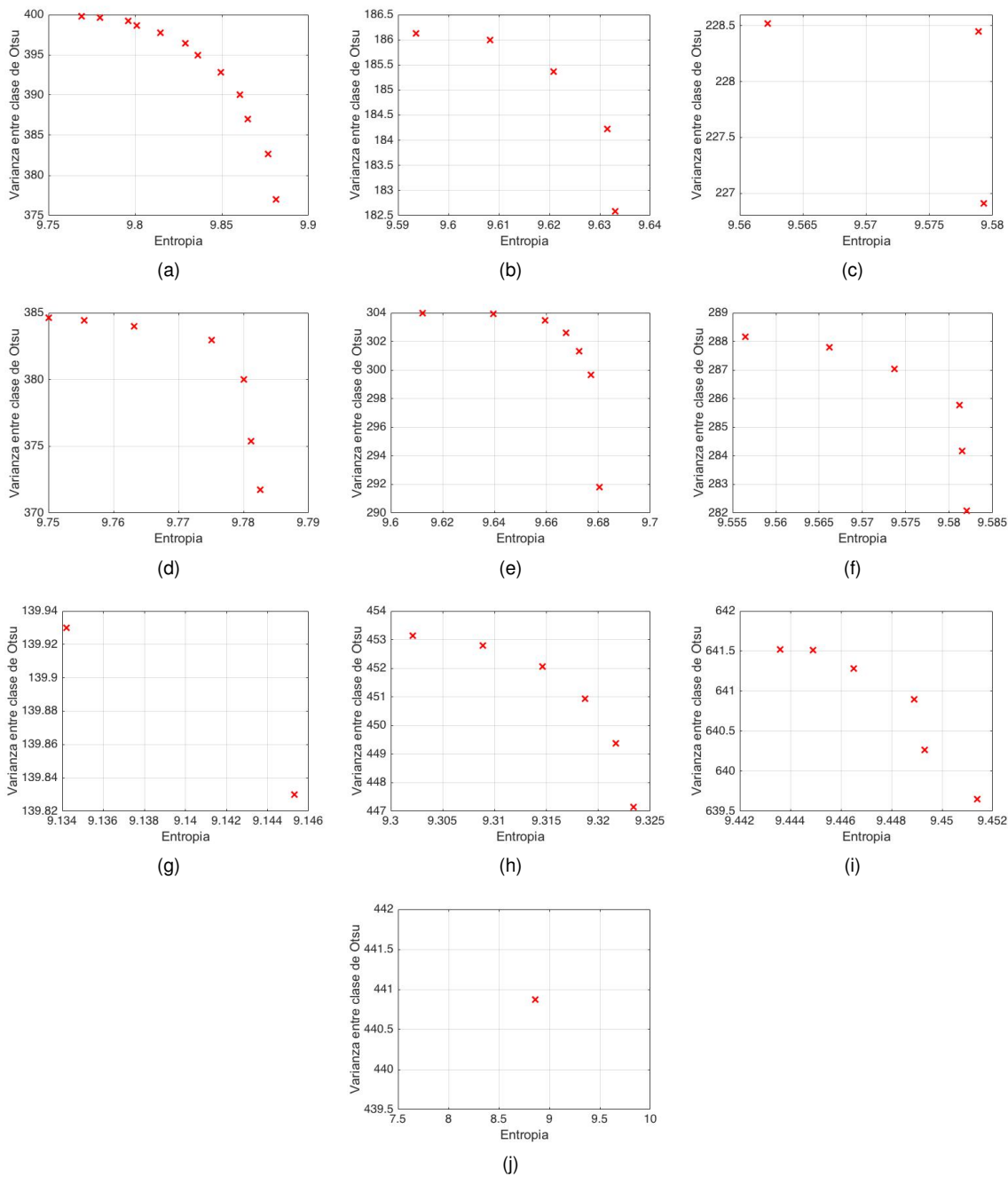


Fig. 13. Frentes de Pareto de imágenes con preprocesamiento

6, 7 y 8 se muestran los valores de PSNR correspondientes a la segmentación utilizando los umbrales incluidos en las Tablas 3, 4 y 5.

Como se puede observar en la Figura 18, en la mayoría de los casos para todas las categorías de imágenes los mejores resultados

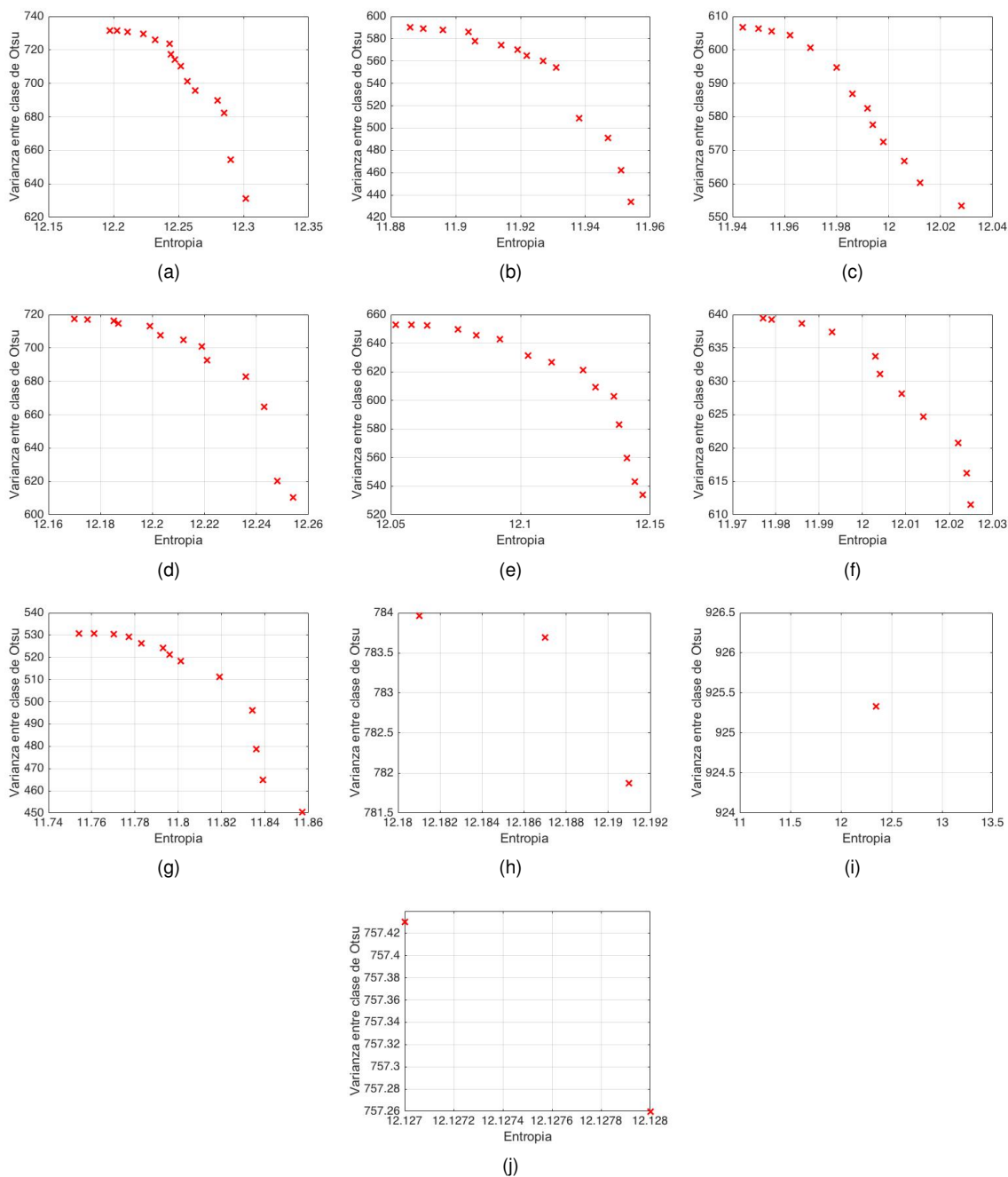


Fig. 14. Frentes de Pareto de imágenes con ruido Gaussiano

en la evaluación cualitativa se obtienen al utilizar el valor inferior del conjunto de Pareto generado con NSGA-II. Cabe resaltar que el desempeño de

Otsu también es bueno en las imágenes sin ruido, ocurriendo lo contrario en el caso de la entropía donde se distinguen resultados satisfactorios en

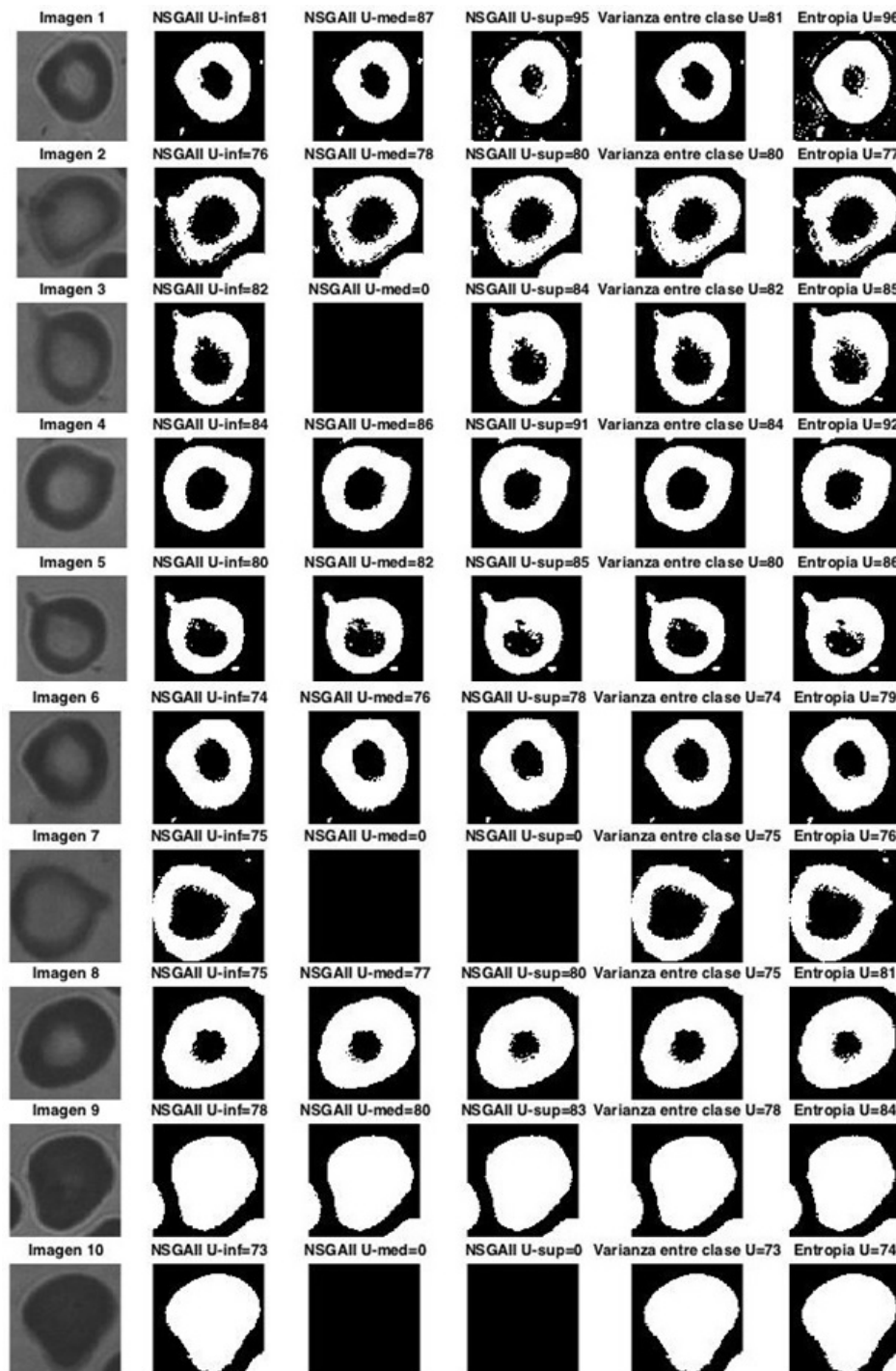


Fig. 15. Segmentación en imágenes Sin preprocesamiento

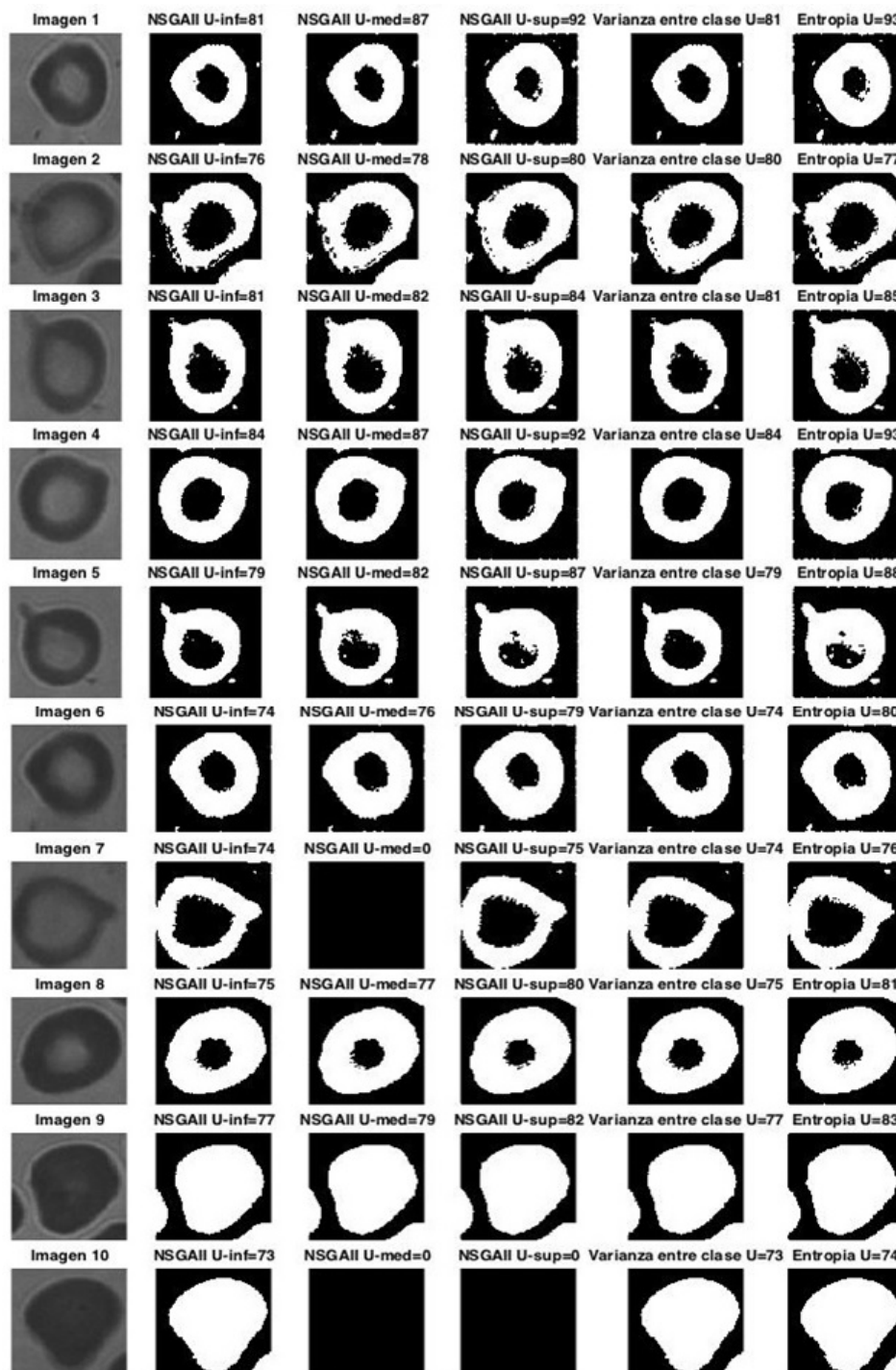


Fig. 16. Segmentación en imágenes Con preprocesamiento

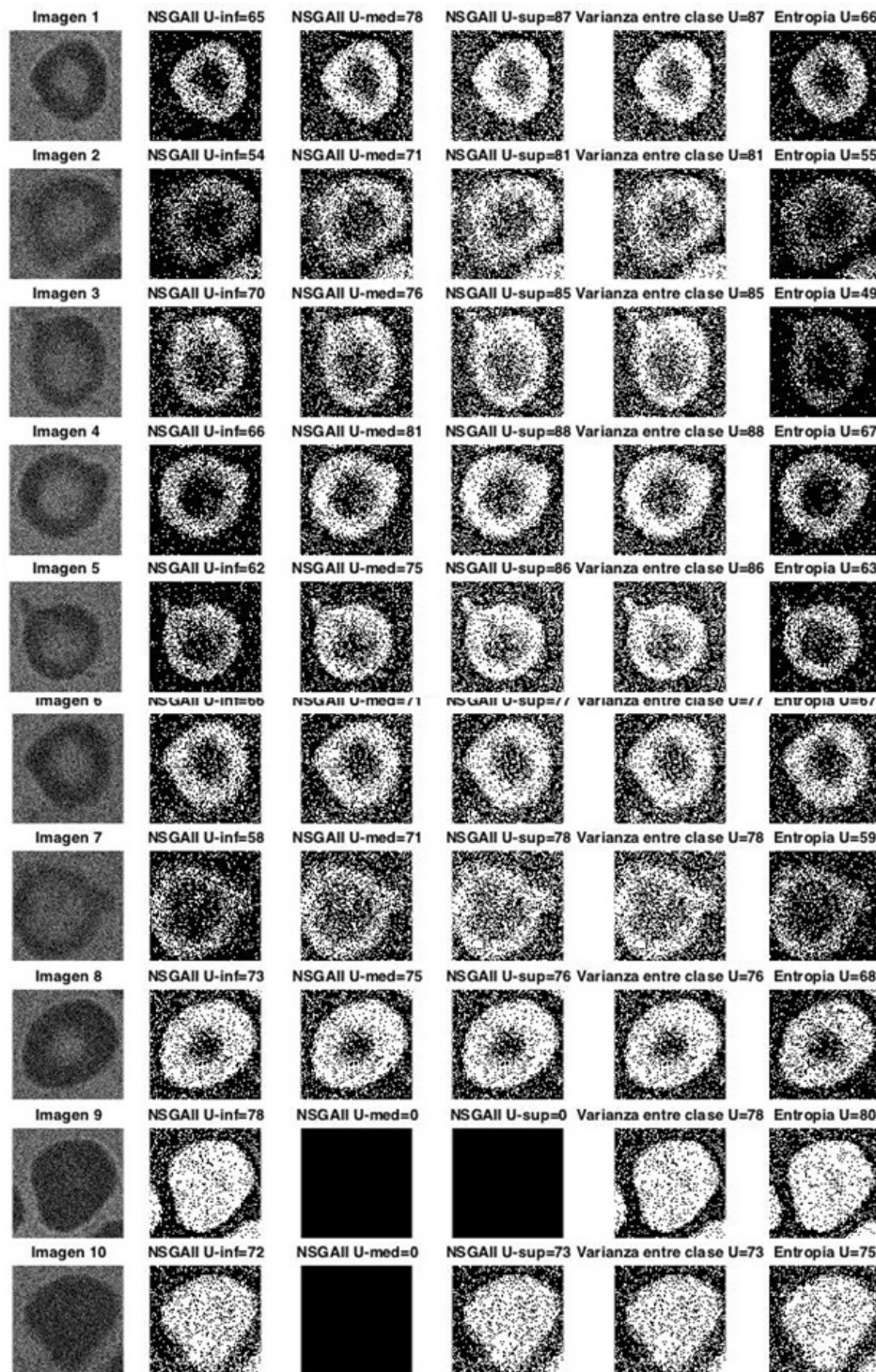


Fig. 17. Segmentación en imágenes con ruido Gaussiano

Tabla 2. Umbrales obtenidos por cada conjunto de Pareto

| Imágenes | | | |
|----------|--|--|--|
| Número | Preprocesamiento | | Con ruido Gaussiano |
| | No | Si | |
| 1 | 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95 | 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 | 65, 68, 72, 73, 74, 75, 77, 78, 79, 81, 82, 84, 85, 86, 87 |
| 2 | 76, 77, 78, 79, 80 | 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 | 54, 57, 60, 62, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 81 |
| 3 | 82, 84 | 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 | 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 78, 80, 82, 83, 84, 85 |
| 4 | 84, 85, 86, 87, 89, 91 | 84, 85, 86, 87, 89, 91, 92 | 66, 67, 73, 76, 78, 80, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 88 |
| 5 | 80, 81, 82, 84, 85 | 79, 80, 81, 82, 83, 84, 87 | 62, 63, 65, 68, 71, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 82, 84, 85, 86 |
| 6 | 74, 75, 76, 77, 78 | 74, 75, 76, 77, 78, 79 | 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 77 |
| 7 | 75 | 74, 75 | 58, 60, 62, 65, 68, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 78 |
| 8 | 75, 76, 77, 78, 79, 80 | 75, 76, 77, 78, 79, 80 | 73, 75, 76 |
| 9 | 78, 79, 80, 81, 82, 83 | 77, 78, 79, 80, 81, 82 | 78 |
| 10 | 73 | 73 | 72 73 |

algunas imágenes con ruido. En relación a las imágenes con preprocesamiento, no se percibe alguna mejora con respecto a las imágenes sin preprocesamiento. Esto sugiere que la cantidad de ruido presente en las imágenes originales no es significativo.

6. Conclusiones

En este trabajo se ha descrito el uso de NSGA-II para la segmentación binivel de imágenes microscópicas utilizando un enfoque de umbralización. Dos funciones objetivo, varianza entre-clase de Otsu y entropía, fueron utilizados en el proceso

Tabla 3. Umbrales seleccionados para imágenes Sin preprocesamiento

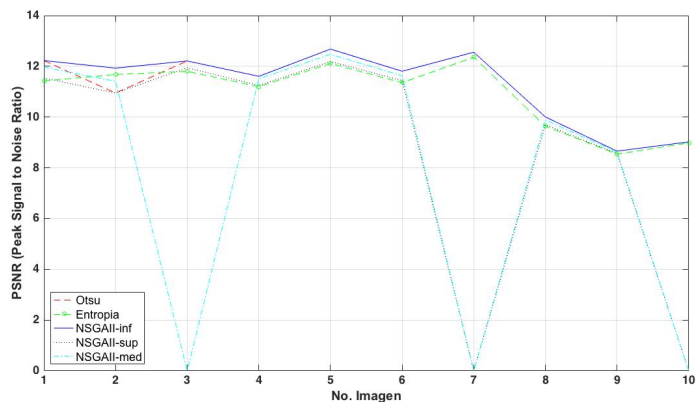
| Valores de Umbral | | | | | |
|-------------------|---------|-----|-----|------------------------------|----------|
| Num. Img. | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 81 | 87 | 95 | 81 | 96 |
| 2 | 76 | 78 | 80 | 80 | 77 |
| 3 | 82 | - | 84 | 82 | 85 |
| 4 | 84 | 86 | 91 | 84 | 92 |
| 5 | 80 | 82 | 85 | 80 | 86 |
| 6 | 74 | 76 | 78 | 74 | 79 |
| 7 | 75 | - | - | 75 | 76 |
| 8 | 75 | 77 | 80 | 75 | 81 |
| 9 | 78 | 80 | 83 | 78 | 84 |
| 10 | 73 | - | - | 73 | 74 |

Tabla 4. Umbrales seleccionados para imágenes Con preprocesamiento

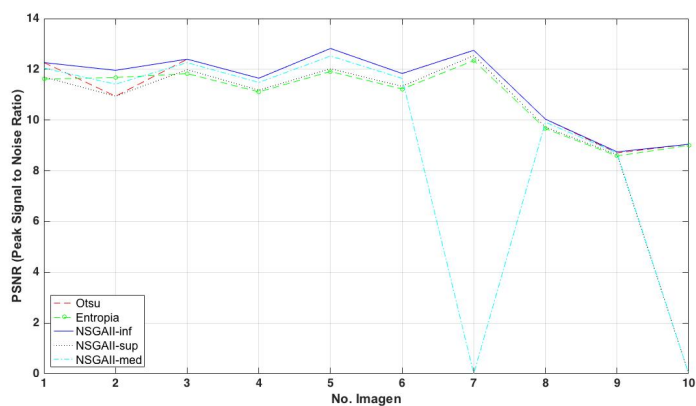
| Valores de Umbral | | | | | |
|-------------------|---------|-----|-----|------------------------------|----------|
| Num. Img. | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 81 | 87 | 92 | 81 | 93 |
| 2 | 76 | 78 | 80 | 80 | 77 |
| 3 | 81 | 82 | 84 | 81 | 85 |
| 4 | 84 | 87 | 92 | 84 | 93 |
| 5 | 79 | 82 | 87 | 79 | 88 |
| 6 | 74 | 76 | 78 | 74 | 79 |
| 7 | 74 | - | 75 | 74 | 76 |
| 8 | 75 | 77 | 80 | 75 | 81 |
| 9 | 77 | 79 | 82 | 77 | 83 |
| 10 | 73 | - | - | 73 | 74 |

de optimización. Aunque el uso independiente de estas funciones objetivo para encontrar el umbral de una categoría de imagen es rápido, su mayor problema radica en que para imágenes ruidosas, su rendimiento es bajo y no es posible, en general, evaluar los compromisos entre las funciones objetivo.

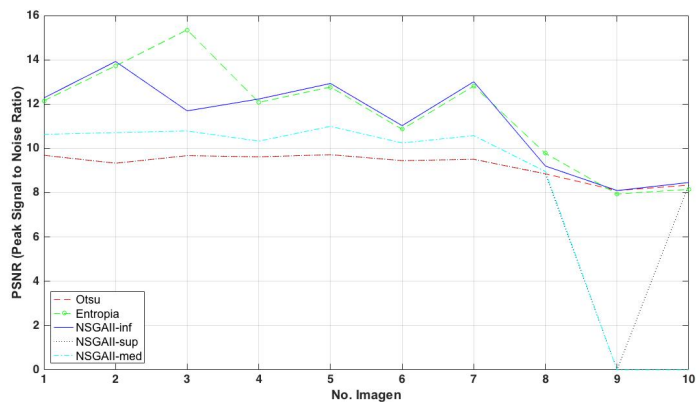
Además, los valores de umbral para cada caso es distinto y como una consecuencia, el número de regiones generadas es diferente en la imagen de salida. Por un lado, una ventaja importante sobre el uso de técnicas de segmentación de imágenes basadas en MOEAs, es la posibilidad de evaluar criterios de segmentación distintos en una sola ejecución.



(a)



(b)



(c)

Fig. 18. Evaluación con PSNR. (a). Imágenes sin preprocesamiento, (b). Imágenes con preprocesamiento, (c). Imágenes con ruido Gaussiano

Tabla 5. Umbrales seleccionados para imágenes con ruido Gaussiano

| Num. Img. | Valores de Umbral | | | | |
|-----------|-------------------|-----|-----|------------------------------|----------|
| | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 65 | 78 | 78 | 87 | 66 |
| 2 | 54 | 71 | 81 | 81 | 55 |
| 3 | 70 | 76 | 85 | 85 | 49 |
| 4 | 66 | 81 | 88 | 88 | 67 |
| 5 | 62 | 75 | 86 | 86 | 63 |
| 6 | 66 | 71 | 77 | 77 | 67 |
| 7 | 58 | 71 | 78 | 78 | 59 |
| 8 | 73 | 75 | 76 | 76 | 68 |
| 9 | 78 | - | - | 78 | 80 |
| 10 | 72 | - | 73 | 73 | 75 |

Por otro lado, el frente de Pareto representa un conjunto de soluciones no dominadas y muestran el compromiso entre las funciones objetivo, las cuales son alternativas viables al ser integradas en aplicaciones específicas, como la identificación de regiones en imágenes médicas que pertenecen a patologías específicas, facilitando con ello la labor de interpretación de las muestras observadas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Mexico, bajo la subvención 222843; en parte por el Programa Fortalecimiento de la Calidad Educativa, bajo la subvención C/PFCE-2016-29MSU0013Y-07-23; y en parte por la Red Temática de Inteligencia Computacional Aplicada bajo la subvención 280663.

Referencias

- Savkare, S.S. & Narote, S.P. (2015).** Blood Cell Segmentation from Microscopic Blood Images. *International Conference on Information Processing (ICIP)*, pp. 502–505.
- Castellanos-Beltrán, L.A., Bautista-Rozo, L.X., & Hasbon-Reyes, L.E. (2012).** Computer Detection System for Red Blood Cells in Microscopy Images. *Gerencia Tecnológica Informática*, Vol. 11, No. 31, pp. 15–24.
- Maza-Sastre, H., Ochoa-Montiel, R., Sánchez-López, C., Pérez-Corona, C., Carrasco-Aguilar, M.A., & Morales-López, F.E. (2014).** Identification of Trypanosoma with Digital Image Processing. *IEEE Central America and Panamá Convention (CONCAPAN XXXIV)*, pp. 134–137.
- Coronel-Morán, R.C. (2005).** Importancia del laboratorio en el diagnóstico y pronóstico de leucemia aguda linfoblástica de la infancia. *Acta Pediátrica de México*, Vol. 26, No. 3, pp. 129–136.
- Pavón-Morán V. et al. (2005).** Leucemia mieloide crónica. Actualización en Citogenética y Biología Molecular. *Instituto de Hematología e Inmunología*, Vol. 1, No. 1, pp. 1–10.
- Guía de Práctica Clínica (2017).** Diagnóstico temprano y oportuno de Leucemia aguda en la infancia y adolescencia en el primer nivel de atención. *Catálogo maestro de guías de práctica clínica*, www.cenete.salud.gob.mx.
- Haralick, R.M. & Shapiro-Linda, M. (1985).** Image Segmentation Techniques. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, Vol. 29, pp. 110–132.
- Mukhopadhyay A., Maulik U., & Bandyopadhyay S. (2009).** Multiobjective Genetic Clustering with Ensemble Among Pareto Front Solutions: Application to MRI Brain Image Segmentation. *2009 Seventh International Conference on Advances in Pattern Recognition*, Vol. 51, No. 1, pp. 236–239.
- Faceli, K., Souto, M.C.P.d., & Carvalho, A.C.P.L.F.d. (2008).** A Strategy for the Selection of Solutions of the Pareto Front Approximation in Multi-objective Clustering Approaches. *10th Brazilian Symposium on Neural Networks*, pp. 27–32.
- Mishra, S., Majhi, B., & Sa, P.K. (2016).** A Survey on Automated Diagnosis on the Detection of Leukemia: A Hematological Disorder. *International Conference on Recent Advances in Information Technology (RAIT)*, pp. 460–466.
- Poornima, N. & Karthikeyan, T. (2016).** A survey on Image Processing Techniques used for Detection of Leukemic Cells. *International Journal of Advanced Research in Computer and Communication Engineering (IJARCCE)*, Vol. 5, No. 4, pp. 587–590.
- Bhattacharjee, R. & Saini, L.M. (2015).** Robust Technique for the Detection of Acute Lymphoblastic Leukemia. *IEEE Power, Communication and Information Technology Conference (PCITC)*, pp. 657–662.

Tabla 6. Resultados de PSNR para imágenes Sin preprocesamiento

| Valores de PSNR | | | | | |
|-----------------|---------|---------|---------|------------------------------|----------|
| Num. Img. | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 12.226 | 11.9690 | 11.5377 | 12.2263 | 11.4236 |
| 2 | 11.9293 | 11.4077 | 10.9474 | 10.9474 | 11.6767 |
| 3 | 12.2112 | - | 11.9424 | 12.2112 | 11.8037 |
| 4 | 11.6060 | 11.5054 | 11.2471 | 11.6060 | 11.1975 |
| 5 | 12.6796 | 12.4736 | 12.1864 | 12.6796 | 12.1114 |
| 6 | 11.8062 | 11.6286 | 11.4407 | 11.8062 | 11.3572 |
| 7 | 12.5553 | - | - | 12.5553 | 12.3565 |
| 8 | 10.0048 | 9.8821 | 9.6959 | 10.0048 | 9.6385 |
| 9 | 8.6564 | 8.6139 | 8.5604 | 8.6564 | 8.5398 |
| 10 | 9.0215 | - | - | 9.0215 | 8.9787 |

Tabla 7. Resultados de PSNR para imágenes Con preprocesamiento

| Valores de PSNR | | | | | |
|-----------------|---------|---------|---------|------------------------------|----------|
| Num. Img. | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 12.2666 | 12.0463 | 11.6974 | 12.2666 | 11.6131 |
| 2 | 11.9598 | 11.4152 | 10.9402 | 10.9402 | 11.6776 |
| 3 | 12.4013 | 12.2630 | 11.9850 | 12.4013 | 11.8310 |
| 4 | 11.6503 | 11.4827 | 11.1803 | 11.6503 | 11.1113 |
| 5 | 12.8224 | 12.5240 | 12.0247 | 12.8224 | 11.9126 |
| 6 | 11.8352 | 11.6412 | 11.3296 | 11.8352 | 11.2243 |
| 7 | 12.7498 | - | 12.5441 | 12.7498 | 12.3434 |
| 8 | 10.0365 | 9.9154 | 9.7229 | 10.0305 | 9.6624 |
| 9 | 8.7482 | 8.7055 | 8.6408 | 8.7055 | 8.5857 |
| 10 | 9.0459 | - | - | 9.0459 | 9.0011 |

Tabla 8. Resultados de PSNR para imágenes con ruido Gaussiano

| Valores de PSNR | | | | | |
|-----------------|---------|---------|--------|------------------------------|----------|
| Num. Img. | NSGA-II | | | Varianza entre clase de Otsu | Entropía |
| | Izq | Med | Der | | |
| 1 | 12.2795 | 10.6358 | 9.6880 | 9.6880 | 12.1487 |
| 2 | 13.9237 | 10.7133 | 9.3311 | 9.3311 | 13.7260 |
| 3 | 11.6944 | 10.7860 | 9.6723 | 9.6723 | 15.351 |
| 4 | 12.2299 | 10.3280 | 9.6204 | 9.6204 | 12.0766 |
| 5 | 12.9316 | 10.9956 | 9.7155 | 9.7155 | 12.7697 |
| 6 | 11.0267 | 10.2439 | 9.4484 | 9.4484 | 10.2439 |
| 7 | 13.0106 | 10.5773 | 9.5078 | 9.5078 | 12.8162 |
| 8 | 9.2035 | 8.9597 | 8.8521 | 8.8521 | 9.7779 |
| 9 | 8.097 | - | - | 8.0970 | 7.9423 |
| 10 | 8.4598 | - | 8.3419 | 8.3419 | 8.1505 |

13. **Khobragade, S., Mor, D.D., & Patil, C.Y. (2015).** Detection of Leukemia in Microscopic White Blood Cell Images. *International Conference on Information Processing (ICIP)*, pp. 435–440.
14. **Vaghela, H.P., Modi, H., Pandya, M., & Potdar, M.B. (2015).** Leukemia Detection using Digital Image Processing Techniques. *International Journal of Applied Information Systems (IJ AIS)*, Vol. 10, No. 1, pp. 43–51.
15. **Haj-Hassan, H., Chaddad, A., Tanougast, C., & Harkouss, Y. (2015).** Comparison of Segmentation Techniques for Histopathological Images. *Fifth International Conference on Digital Information and Communication Technology and its Applications (DICTAP)*, pp. 80–85.
16. **Deshmukh B.S. & Mankar V.H. (2014).** Segmentation of Microscopic Images: A survey. *International Conference on Electronic Systems, Signal Processing and Computing Technologies (ICESC)*, pp. 362–364.
17. **Piuri, V. & Scotti, F. (2004).** Morphological Clasification of Blood Leucocytes by Microscope images. *IEEE International Conference on Computational Intelligence for Measurement Systems and Applications (CIMS A)*, pp. 103–108.
18. **Halim, N.H.A., Mashor, M.Y., Nasir, A.S.A., Mokhtar, N.R. & Rosline, H. (2011).** Nucleus Segmentation Technique for Acute Leukemia. *IEEE 7th International Colloquium on Signal Processing and its Applications (CSPA 2011)*, pp. 192–197.
19. **Mohapatra, S., Patra, D., Kumar, S. & Satpathi, S. (2012).** Kernel Induced Rough c-means Clustering for Lymphocyte Image Segmentation. *4th International Conference on Intelligent Human Computer Interaction (IHCI)*, pp. 1–6.
20. **Agaian, S., Madhukar, M. & Chronopoulos, A.T. (2014).** Automated Screening System for Acute Myelogenous Leukemia Detection in blood microscopic images. *IEEE Systems Journal*, Vol. 8, No. 3, pp. 995–1004.
21. **Singhal, V. & Singh, P. (2014).** Local Binary Pattern for Automatic Detection of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Twentieth National Conference on Communications (NCC)*, pp. 1–5.
22. **Raje, C. & Rangole, J. (2014).** Detection of Leukemia in Microscopic Images Using Image processing. *International Conference on Communications and Signal Processing (ICCSP)*, pp. 255–259.
23. **Das, B.K., Jha, K.K., & Dutta, H.S. (2014).** A New Approach for Segmentation and Identification of Disease Affected Blood Cells. *International Conference on Intelligent Computing Applications (ICICA)*, pp. 208–212.
24. **Subhan-Kaur, P. (2015).** Significant Analysis of Leukemic Cells Extraction and Detection Using KNN and Hough Transform Algorithm. *International Journal of Computer Science Trends and Technology (IJCTST)*, Vol. 3, No. 1, pp. 1–5.
25. **Putzu, L. & Di-Ruberto, C. (2013).** White Blood Cells Identification and Classification from Leukemic Blood Image. *International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (IWB-BIO 2013)*, pp. 99–108.
26. **Chatap, N. & Shibu, S. (2014).** Analysis of Blood Samples for Counting Leukemia Cells using Support Vector Machine and Nearest Neighbour. *Journal of Computer Engineering (IOSR-JCE)*, Vol. 16, No.5, pp. 79–87.
27. **Bhamare, M.G. & Patil, D.S. (2013).** Automatic Blood Cell Analysis by Using Digital Image Processing: A Preliminary Study. *International Journal of Engineering Research Technology*, Vol. 2, No. 9, pp. 3137–3141.
28. **Chin, N.S., Srisukkhram, W., Zhang, L., et al. (2015).** An Intelligent Decision Support System for leukaemia Diagnosis using Microscopic Blood Images. *Scientific Reports*, Vol. 5, No. 14938, pp. 1–14.
29. **Zheng, X., Zhang, Y., Shi, J. & Yu, Y. (2011).** Analysis of Leukemia Development based on Marrow Cell images. *4th International Congress on Image and Signal Processing (CISP)*, pp. 95–99.
30. **Jabar, F.H.A., Ismail, W., Salam, R.A., & Hassan, R. (2013).** Image Segmentation Using an Adaptive Clustering Technique for the Detection of Acute Leukemia Blood Cells Images. *International Conference on Advanced Computer Science Applications and Technologies (ACSAT)*, pp. 373–378.
31. **Ansha Beevi, S. & Remya, R.S. (2014).** An Overview on Acute Lymphocytic Leukemia Detection using Cell Image Segmentation. *IOSR Journal of Computer Engineering (IOSR-JCE)*, 1(4), 22–29.
32. **Deb, K., Agrawal, S., Pratap, A., & Meyarivan, T. (2002).** A Fast and Elitist Multi-Objective Genetic Algorithm: NSGA-II. *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, 6(2), 182–197.
33. **Davies, E.R. (2012).** Computer & Machine Vision: Theory Algorithms Practicalities. *4th. Ed. Elsevier, UK*.

34. Sezgin, M. & Sankur, B. (2004). Survey over image thresholding techniques and quantitative performance evaluation. *Journal of Electronic Imaging*, 13(1), 146–165.
35. Glasbey, C.A. (1993). An Analysis of Histogram-based Thresholding Algorithm. *CVGIP: Graph Models Image Process*, 55(6), 532–537.
36. Pal, N.R. & Pal, S.K. (1993). A Review on Image Segmentation Techniques. *Pattern Recognition*, 9(26), 1277–1294.
37. Otsu, N. (1979). A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems Man and Cybernetics*, 9(1), 62–66.
38. Pun, T. (1981). Entropic Thresholding: A New Approach. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, 16(1), 210–239.
39. Cattaneo, C.A. et al. (2011). Métodos de Umbralización de Imágenes Digitales Basados en Entropía de Shannon y Otros. *Asociación Argentina de Mecánica Computacional*, 29(1), 2785–2805.
40. Kittler, J. (1986). Minimum Error Thresholding. *Pattern Recognition*, 19(1), 41–47.
41. Repository of USC University of Southern California (2017) *Signal and Image Processing Institute*. Sipi.usc.edu/database/?volumne=misc. Date of consult: 25 January 2017.
42. Abraham, A., Jain, L., & Goldberg, R. (2005). *Evolutionary Multiobjective Optimization: Theoretical Advances and Applications*. Springer.
43. Chin-Wei, B. & Rajeswari, M. (2010). Multiobjective Optimization Approaches in Image Segmentation-The Directions and Challenges. *International Journal of Advances in Soft Computing and its Applications*, 2(1), 40–64.
44. Nakib, A., Oulhadj, H., & Siarry, P. (2010). Image Thresholding based on Pareto Multiobjective Optimization. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 23(1), 313–320.
45. Djerrou, L., Khelil, N., Dehimi, N.H., & Batouche, M. (2012). Automatic Multi-Level Thresholding Segmentation Based on Multi-Objective Optimization. *Journal of Applied Computer Science & Mathematics*, 13(6), 1–8.
46. Nakib, A., Oulhadj, H., & Siarry, P. (2007). Image Histogram Threshold based on Multiobjective Optimization. *Signal Processing*, 87(2), 2516–2534.
47. Nakib, A., Oulhadj, H., & Siarry, P. (2008). Non-Supervised Image Segmentation based on Multiobjective Optimization. *Pattern Recognition Letters*, 29(1), 161–172.
48. Arulraj, M., Nakib, A., Cooren, Y., & Siarry, P. (2014). Multicriteria Image Thresholding Based on Multiobjective Particle Swarm Optimization. *Journal of Applied Mathematical Sciences*, 8(3), 131–137.
49. Periasamy, K.R. (2012). *Multiobjective Optimization Based Image Segmentation: Method and Applications*. M.S. thesis, Dept. Chemical & Biomolec. Eng., Singapur Nat. Univ., Singapur.
50. Ochoa, M.R., Sánchez, L.C., & González, B.J.A. (2015). Thresholding of Biological Images by using Evolutionary Algorithms. *2nd. Latin-American Congress on Computational Intelligence & 21^o. Congresso Brasileiro de Inteligencia Computacional. LA-CCI & CBIC 2015*, IEEE Press, pp. 1–6.
51. Reyes-Sierra, M. & Coello-Coello, C.A. (2006). Multi-objective Particle Swarm Optimizers: A Survey of State of the Art. *International Journal of Computational Intelligence Research*, 2(3), 287–308.
52. Santiago, A., Fraire, H.J. et al. (2014). A survey of Decomposition Methods for Multi-objective Optimization. *Recent Advances on Hybrid Approaches for Designing Intelligent Systems*, 547(1), 453–465.
53. Branke, J., Deb, K., Miettinen, K. & Slowiński, R. (2008). *Multiobjective Optimization: Interactive and Evolutionary Approaches*. Springer.
54. Sudeng, S. & Wattanapongsakorn, N. (2015). Finding Knee Solutions in Multiobjective Optimization using Extended Angle Dominance Approach. *Information Science and Applications. Lecture Notes in Electrical Engineering*, Springer-Verlag, 339(1), 673–679.
55. Zio, E. & Bazzo, R. (2012). A comparison of Methods for Selecting Preferred Solutions in Multiobjective Decision Making. *Computational Intelligence Systems in Industrial Engineering*, Atlantis Computational Intelligence Systems, 6(1), 23–43.
56. Haralick, R.M. & Shapiro, L.M. (1985). Image Segmentation Techniques. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, 29(1), 110–132.
57. Ng, H. (2006). Automatic thresholding for defect detection. *Pattern Recognition Letters*, 27(1), 1644–1649.
58. Lee, H. & Park, R.H. (2002). Comments on an optimal multiple threshold scheme for image segmentation. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 20(3), 741–742.
59. Fukunage, K. (1972). *Introduction to Statistical Pattern Recognition*. New York Academic, 260–267.

60. **Shannon, C.E. (1948).** A Mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal*, 27(1), 379–423, 623–656.
61. **Pun, T. (1980).** A new method for gray-level picture threshold using the entropy of the histogram. *Signal Processing*, 2(3), 223–237.
62. **Kapur, J.N., Sahoo, P.K., & Wong, A.K. (1985).** A new method for gray-level picture thresholding using the entropy of the histogram. *Graphics Models Image Process*, 29(1), 273–285.
63. **Yen, J.C., Chang, F.J., & Chang, S. (1995).** A new criterion for automatic multilevel thresholding. *IEEE Transactions on Image Processing*, 4(1), 370–378.
64. **Sahoo, P., Wilkins, C., & Yeager, J. (1997).** Threshold selection using Renyi's entropy. *Pattern Recognition*, 30(1), 71–84.
65. **Li, C.H. & Lee, C.K. (1993).** Minimum cross-entropy thresholding. *Pattern Recognition*, 26(1), 617–625.
66. **Li, C.H. & Tam, P.K.S. (1998).** An iterative algorithm for minimum cross-entropy thresholding. *Pattern Recognition Letters*, 19(1), 771–776.
67. **Brink, A.D. & Pendock, N.E. (1996).** Minimum cross entropy threshold selection. *Pattern Recognition*, 29(1), 179–188.
68. **Pal, N.R. (1996).** On minimum cross-entropy thresholding. *Pattern Recognition*, 29(4), 575–580.
69. **Cheng, H.D., Chen, Y.H. & Sun, Y. (1999).** A novel fuzzy entropy approach to image enhancement and thresholding. *Signal Processing*, 75(1), 277–301.
70. **Shanbag, A.G. (1994).** Utilization of information measure as a means of image thresholding. *Computing Vision on Graphics Image Processing*, 56(1), 414–419.
71. **Johannsen, G. & Bille, J. (1982).** A threshold selection method using information measures. *ICPR'82: Proceedings of the 6th International Conference Pattern Recognition*, pp. 140–143.
72. **Pal, S.K, King, R.A, & Hashim, A.A. (1980).** Automatic gray level thresholding through index of fuzziness and entropy. *Pattern Recognition Letters*, 1(3), 141–146.
73. **De la Escalera, A. (2001).** *Visión por Computador, Fundamentos y Métodos*. Prentice Hall.

Article received on 28/02/2017; accepted on 28/02/2017.
Corresponding author is R. Ochoa-Montiel.