

Modélisation des transferts radiatifs avec fluorescence pour la quantification de biomarqueurs en neurochirurgie

Elias Gabory^{1,2}, Arthur Gautheron^{2,3}, Mathieu Galtier¹, Bruno Montcel², Maxime Roger^{1*}

¹ INSA Lyon, CNRS, CETHIL UMR5008, F-69621 Villeurbanne, France

² Univ Lyon, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CRE-ATIS UMR 5220, U1294, F-69100, Lyon, France

³ Université Jean Monnet Saint-Etienne, CNRS, Institut d'Optique Graduate School, Laboratoire Hubert Curien UMR 5516, F-42023, SAINT-ETIENNE, France

(auteur correspondant : maxime.roger@insa-lyon.fr)

Résumé - Un modèle de propagation du rayonnement avec fluorescence pour la quantification de biomarqueurs en neurochirurgie est proposé dans cette étude et simulé avec la méthode de Monte-Carlo. Ce modèle s'appuie sur l'équation de transfert radiatif dans laquelle est ajouté un terme source tenant compte de l'émission par fluorescence, et qui va impliquer un couplage entre les équations définies à la longueur d'onde d'absorption par le fluorophore, et aux longueurs d'onde d'émission fluorescente. Des mesures de spectroscopie de fluorescence sur fantômes optiques ont permis de valider expérimentalement l'approche proposée.

1 Introduction

L'utilisation de l'imagerie médicale dans le diagnostic et la prise en charge des patients prend une place de plus en plus importante en neurochirurgie. En particulier, l'imagerie per-opératoire (dans le bloc opératoire chirurgical) se développe fortement et pose de nombreux problèmes scientifiques, techniques et expérimentaux dans un champ de recherche pluridisciplinaire aux frontières de la physique et de la médecine.

Le glioblastome multiforme est une tumeur cérébrale grave qui représente la large majorité des tumeurs malignes du cerveau [1]. Ce sont des tumeurs cérébrales généralement très agressives. Le traitement standard pour les patients est une chirurgie d'exérèse tumorale complète, suivie par des traitements de radiothérapie et chimiothérapie. Cependant ces traitements ne permettent pas une guérison définitive car une récurrence est presque toujours inévitable, la plupart du temps (85% des cas) sur le site de la précédente opération [2].

L'enjeu de la chirurgie est de maximiser la résection de la tumeur, afin de laisser le moins possible de cellules cancéreuses et retarder ainsi le développement du gliome et la récurrence. Dans la pratique cet enjeu se traduit par la capacité à discerner les cellules tumorales, y compris les infiltrations et la marge tumorale, des tissus cérébraux sains. Le problème est double car il faut d'une part retirer le plus possible de cellules tumorales et d'autre part limiter le plus possible les éventuels dégâts causés aux tissus sains. En effet, ces tumeurs peuvent être situées à proximité ou à l'intérieur d'aires fonctionnelles importantes du cerveau dont la résection peut causer des déficits sévères, faisant de l'exérèse chirurgicale une opération lourde.

En plus d'être situées au contact direct des tissus sains, les tissus tumoraux ont un aspect semblable et la marge tumorale en particulier peut être indiscernable à l'œil nu. Cet obstacle motive l'utilisation de techniques per-opératoires pour guider la différenciation des tissus pendant la résection. La technique la plus utilisée est celle du guidage par fluorescence. Il s'agit

en principe d'utiliser un biomarqueur fluorescent s'accumulant dans les cellules tumorales et non dans les cellules saines. Cela permet au chirurgien de repérer plus facilement à l'œil nu les tissus cancéreux car ils fluorescent. Le biomarqueur couramment utilisé est la molécule de protoporphyrine IX (PpIX). Il s'agit d'une molécule naturellement présente dans le corps en tant que molécule précurseuse de l'hémoglobine. Elle ne s'accumule pas dans le cerveau, sauf dans les cellules tumorales. Cette molécule est fluorescente et émet une lumière rouge lorsqu'excitée par un rayonnement bleu [3]. Pendant l'opération, le chirurgien a la possibilité d'éclairer le cerveau du patient à l'aide d'une lumière bleue, provoquant la fluorescence de la PpIX et lui permettant de voir les tissus dans lesquels elle s'accumule, émettant une lumière rose ou rouge.

Bien que l'efficacité du guidage par fluorescence soit reconnue et que ces méthodes fassent partie du protocole standard au niveau clinique [4], elles ne constituent pas une solution pleinement satisfaisante. En effet les glioblastomes sont des tumeurs infiltrantes. Les zones infiltrées sont un mélange de tissus tumoraux et sains, or l'émission fluorescente de la PpIX est uniquement due aux cellules tumorales et subit des phénomènes délétères pour sa détection lors du passage dans des zones saines (absorption, diffusion). Par conséquent seules les cellules tumorales directement exposées sont visibles par fluorescence et il y a un risque de laisser une infiltration indétectée. De plus, l'émission fluorescente est corrélée à la concentration en cellules tumorales. Cela signifie que si le centre de la tumeur émet un signal fluorescent visible à l'œil nu, les marges tumorales émettent un signal bien plus faible car elles contiennent moins de cellules tumorales. Ainsi le problème de la délimitation du gliome demeure. A cause de ces limitations la problématique initiale, à savoir la capacité à discerner la marge tumorale des tissus sains, reste en grande partie irrésolue. Il s'agit d'un obstacle principal au traitement neurochirurgical des gliomes et il concentre donc une grande partie de la recherche dans ce type de traitements.

En ce qui concerne la neurochirurgie guidée par fluorescence, une piste des plus explorées est la spectroscopie de fluorescence. L'objectif est de compléter la méthode qualitative que constitue l'observation visuelle du chirurgien par des méthodes quantitatives, en visant notamment la quantification des biomarqueurs comme la PpIX. Une telle quantification pourrait permettre de caractériser un tissu tumoral par sa concentration en PpIX même quand la fluorescence est invisible à l'œil nu [5, 6]. Cette problématique se partage entre le développement de nouveaux outils pour mesurer la fluorescence dans les tissus biologiques et la mise au point de modèles théoriques afin de pouvoir interpréter ces données et produire des estimations quantitatives des biomarqueurs à partir de mesures de spectroscopie de fluorescence, ainsi que de modèles permettant de produire une estimation sur la nature du tissu (par exemple la concentration en cellules tumorales) à partir de cette quantification des biomarqueurs.

Toutefois, pour quantifier ces biomarqueurs, il est nécessaire de modéliser et de simuler la propagation de la lumière et le phénomène de fluorescence dans le cerveau. Celui-ci est composé de matière grise et de fluorophores agglomérés dans les cellules tumorales uniquement et constitue donc un milieu hétérogène complexe. L'objectif de cette étude est de modéliser les transferts radiatifs avec fluorescence dans ce contexte de quantification de biomarqueurs de la marge tumorale du gliome. Des acquisitions expérimentales sur des fantômes optiques simulant les propriétés du cerveau sont effectuées pour valider les résultats des simulations.

2 Modélisation des transferts radiatifs avec fluorescence dans le cerveau

2.1 Fluorescence de la protoporphyrine IX

Une espèce chimique fluorescente peut sous certaines conditions changer d'état électronique en absorbant un rayonnement électromagnétique (dit d'excitation). Par exemple, une molécule fluorescente peut absorber des photons et se trouver ensuite dans un état électroniquement excité. Cet état n'est pas stable et la molécule retourne après un certain temps à son état d'équilibre, de plus basse énergie. C'est en retournant à cet état de plus basse énergie qu'un nouveau photon est émis (rayonnement de fluorescence) et c'est cette désexcitation électronique associée à cette émission qui est appelée fluorescence. Une molécule présentant cette propriété est appelée fluorophore. Il s'agit d'un phénomène très rapide, les molécules fluorescentes restant toujours très peu de temps dans leur état excité.

Les propriétés d'un fluorophore sont décrites par son spectre d'absorption, son spectre d'émission et son rendement quantique. Parmi les photons absorbés par un fluorophore, tous ne provoquent pas d'émission fluorescente. En moyenne, il faut qu'un fluorophore absorbe un certain nombre de photons (à la longueur d'onde λ_x pour émettre un seul photon de fluorescence (à une longueur d'onde λ_F supérieure à λ_x). Le rendement quantique photonique $\eta_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}$ est défini comme l'inverse de ce nombre, soit le nombre moyen de photons émis par fluorescence par rapport au nombre de photons absorbés.

La molécule de PpIX peut se trouver sous deux formes dans les tissus cérébraux, dans des proportions dépendantes du microenvironnement dont le pH). La forme PpIX634 domine à des pH plus acides que la forme PpIX620. Ces deux formes de PpIX ont un spectre d'émission différent, mais également un spectre d'absorption et des rendements quantiques différents (voir figure 1).

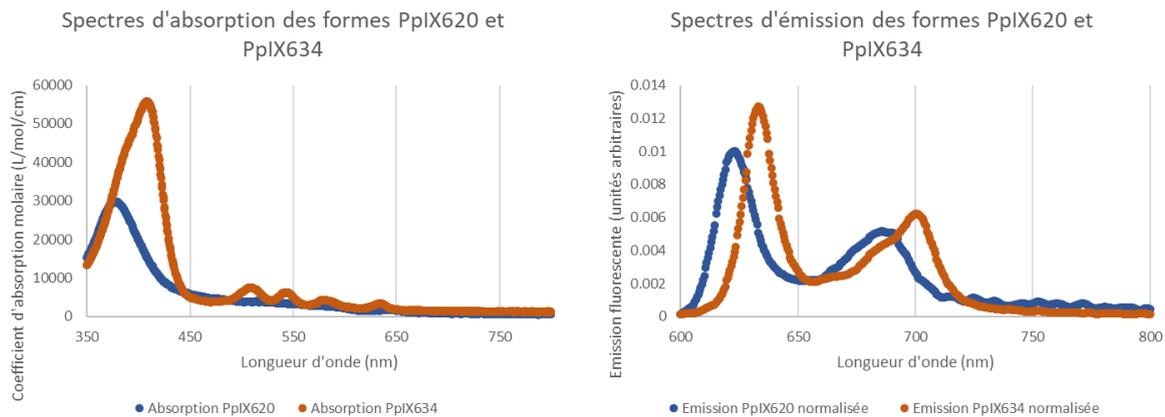


Figure 1: Spectres d'absorption et d'émission fluorescente de la PpIX620 (en bleu) et de la PpIX634 (en orange). Les spectres d'absorption sont donnés entre 350 nm et 800 nm pour couvrir la plage d'excitation et celle de réémission. Les spectres d'émission ne sont donnés qu'entre 600 nm et 800 nm car la réémission peut être considérée nulle pour des longueurs d'onde en dehors de cette plage spectrale. L'absorption est donnée en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. L'émission est normalisée et exprimée en unités arbitraires pour comparer la forme des spectres.

Au niveau théorique, cela imposera de considérer deux fluorophores et non un seul, chacun

avec un ensemble de propriétés. Au niveau expérimental, la difficulté vient de la réalisation de fantômes optiques en maîtrisant la concentration de chacune des deux formes, car si l'on peut facilement contrôler la concentration totale le rapport de prédominance entre les deux formes ne peut être contrôlé que de façon indirecte par l'acidité de la solution.

2.2 Modélisation des transferts radiatifs avec fluorescence

La modélisation des transferts radiatifs avec fluorescence dans le cerveau s'appuie sur l'équation de transfert radiatif dans laquelle un terme source modélisant la fluorescence est ajoutée. Ce terme source implique un couplage entre les équations définies aux longueurs d'onde d'absorption des photons λ_x (aussi appelée longueurs d'onde d'excitation) et de longueur d'onde de fluorescence λ_F .

$$\mathbf{u} \cdot \nabla I_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) = -\beta_{\lambda_x}(\mathbf{x}) I_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) + \sigma_{\lambda_x}(\mathbf{x}) \int_{4\pi} p_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}|\mathbf{u}') I_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}') d\mathbf{u}' \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{u} \cdot \nabla I_{\lambda_F}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) &= -\beta_{\lambda_F}(\mathbf{x}) I_{\lambda_F}(\mathbf{x}, \mathbf{u}) + \sigma_{\lambda_F}(\mathbf{x}) \int_{4\pi} p_{\lambda_F}(\mathbf{x}, \mathbf{u}|\mathbf{u}') I_{\lambda_F}(\mathbf{x}, \mathbf{u}') d\mathbf{u}' \\ &+ \eta_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F} \kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F} \int_{4\pi} \frac{1}{4\pi} I_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}') d\mathbf{u}' \end{aligned} \quad (2)$$

La première équation régit la propagation du rayonnement à la longueur d'onde d'excitation λ_x , donc du rayonnement issu de la source. Ce n'est autre qu'une ETR classique pour un milieu absorbant, diffusant et non-émettant (de coefficient d'extinction $\beta_{\lambda_x} = \kappa_{\lambda_x} + \sigma_{\lambda_x}$ où κ_{λ_x} et σ_{λ_x} sont respectivement les coefficients d'absorption et de diffusion à la longueur d'onde λ_x) et de fonction de phase $p_{\lambda_x}(\mathbf{x}, \mathbf{u}|\mathbf{u}')$. Seul le rayonnement absorbé par des fluorophores peut donner lieu à une réémission, or il y a des absorbeurs non fluorescents dans le milieu. On définit donc un coefficient d'absorption avec réémission $\kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}$ et un coefficient d'absorption sans réémission $\kappa_{\lambda_x}^0$, tels que leur somme soit égale au coefficient d'absorption total $\kappa_{\lambda_x} = \kappa_{\lambda_x}^0 + \kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}$.

La seconde équation régit les transferts radiatifs pour la longueur d'onde de réémission ou de fluorescence λ_F . Outre les termes d'atténuation et de diffusion entrante (deux premiers termes de droite, similaires à ceux de la première équation), on a un terme source de plus, qui représente la fluorescence et qui dépend du rendement quantique $\eta_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}$ et du coefficient d'absorption $\kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}$ des fluorophores à la longueur d'onde d'excitation. Le terme de fluorescence fait apparaître une moyenne sur 4π sr car l'émission fluorescente est isotrope.

Ce système n'a que deux équations, une ETR pour la longueur d'onde d'excitation et une pour la longueur d'onde de réémission. Or si la source d'excitation (un laser dans notre étude) est bien considéré monochromatique, la fluorescence ne l'est pas. Toutefois, la deuxième équation est identique pour n'importe quel λ_F du spectre de réémission.

2.3 Résolution par la méthode de Monte-Carlo

La méthode de Monte-Carlo est utilisée pour résoudre le système d'équations 1 et 2. L'algorithme est un algorithme classique de résolution de l'ETR dans lequel on ajoute les événements de fluorescence. Ainsi, dans la simulation d'un trajet optique, à chaque position de collision, il peut s'agir d'une absorption définitive, d'une diffusion ou d'un événement de fluorescence. Les probabilités d'occurrence de chaque collision sont définies par :

$$P_{abs} = \frac{\kappa_{\lambda_x}^0}{\beta_{\lambda_x}} ; \quad P_{diff} = \frac{\sigma_{\lambda_x}}{\beta_{\lambda_x}} ; \quad P_{fluor} = \frac{\kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F}}{\beta_{\lambda_x}} \quad (3)$$

Ces termes représentent respectivement les probabilités d'absorption, de diffusion et de fluorescence. Dans un tel algorithme, un évènement de fluorescence a pour conséquence un changement de la longueur d'onde du rayon suivi (voir figure 2). On échantillonne alors la nouvelle longueur d'onde selon le spectre d'émission de la PpIX. Si l'algorithme compte deux fluorophores comme les formes PpIX620 et PpIX634, on échantillonne alors une forme selon leurs proportions respectives.

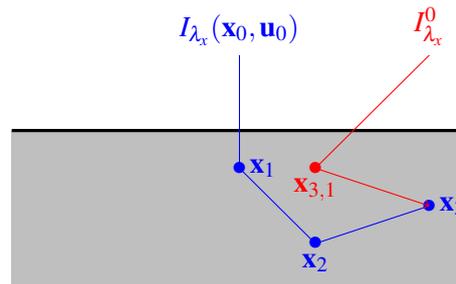


Figure 2: Schéma d'un trajet optique simulé par l'algorithme Monte-Carlo. Ici, une fluorescence a lieu au point x_3 , où l'on change de longueur d'onde. Ensuite le chemin (en rouge sur le schéma) est poursuivi jusqu'à sortir du milieu. Toutefois, l'algorithme peut stopper en amont si une absorption a lieu auparavant.

3 Mesures de spectroscopie de fluorescence sur fantômes

Des manipulations sur fantômes optiques ont été effectuées afin d'obtenir des données in vitro pour une configuration expérimentale reproductible par simulation. Ces fantômes optiques ont les mêmes propriétés d'absorption et de diffusion que le cerveau humain dans la plage fréquentielle d'intérêt (visible et proche IR). Les fantômes optiques considérées sont des solutions dont la composition met en jeu les éléments suivants :

- Un solvant, le PBS (phosphate-buffered saline). Il s'agit d'une solution aqueuse, considérée transparente dans notre cas d'étude.
- Un fluorophore, la protoporphyrine IX. On utilise une solution de concentration connue de PpIX ($1,2 \cdot 10^{-3}$ mol/L) qui est a priori uniquement sous la forme PpIX634. Cependant, une fois dans la solution, la PpIX s'équilibre en fonction du pH entre ses deux formes PpIX620 et PpIX634. Ses propriétés de fluorescence et d'absorption sont connues. Sa diffusion est considérée négligeable.
- Un absorbeur, de l'encre de Chine : elle est noire et présente une forte absorption. Dans notre étude, l'intérêt est de simuler un phénomène d'absorption car les tissus cérébraux sont assez absorbants et la PpIX n'est qu'un absorbeur minoritaire. Les propriétés de diffusion de l'encre de chine sont également négligées.
- Un diffuseur, des intralipides. Il s'agit d'émulsions de lipides reproduisant les propriétés de diffusion des tissus biologiques.
- Une base, l'hydroxyde de sodium ou soude (NaOH) en solution aqueuse. La soude permet de modifier l'acidité du mélange et favorise la prédominance de la forme PpIX620 de la protoporphyrine. La solution mère de soude utilisée était à une concentration valant 1,0 mol/L. Les propriétés optiques de cette solution sont également négligeables, elle est considérée transparente comme le solvant PBS.

Le protocole de mesure de spectroscopie de fluorescence est assez simple. Une sonde à tête métallique à la surface de laquelle se trouvent les ouvertures des fibres optiques d'excitation et de collection est plongée dans le fantôme liquide, placé dans un bécher sur un agitateur. La fibre d'excitation est reliée à une source laser. L'autre fibre de collection est reliée à un spectrophotomètre. Au moment de réaliser la mesure, le laser émet un signal d'intensité contrôlée qui provoque la fluorescence de la PpIX contenue dans l'échantillon, une partie de ce signal de fluorescence est capté par la fibre de collection et est transmis au spectrophotomètre qui enregistre le spectre mesuré entre 400nm et 800nm. Le signal mesuré est donc un signal rétrodiffusé. L'émission du laser et l'acquisition par le spectromètre durent 200ms et sont synchronisées car les phénomènes de propagation de la lumière et de fluorescence ont lieu à des échelles de temps négligeables. Chaque mesure est un enregistrement de deux séries de cinq acquisitions de 200ms chacune (soit 10 spectres par mesure), une série avec le laser émettant autour d'une longueur d'onde centrale de 385nm et l'autre série à 405nm. Les mesures sont réalisées dans l'obscurité afin de n'avoir aucune autre source de lumière que le laser.

4 Résultats

4.1 Validation du modèle de transfert radiatif avec fluorescence

La validation de l'incorporation du phénomène de fluorescence au modèle radiatif est faite à l'aide du problème présenté par Farrell et Patterson dans [7] dans lequel on considère un milieu semi-transparent, semi-infini, homogène et fluorescent à une excitation par une source cohérente monochromatique et d'étendue infinie. L'émission fluorescente est également monochromatique. Les auteurs présentent une solution analytique s'appuyant sur une approximation de la diffusion. La figure 3 présente une comparaison des résultats obtenus à partir de la solution

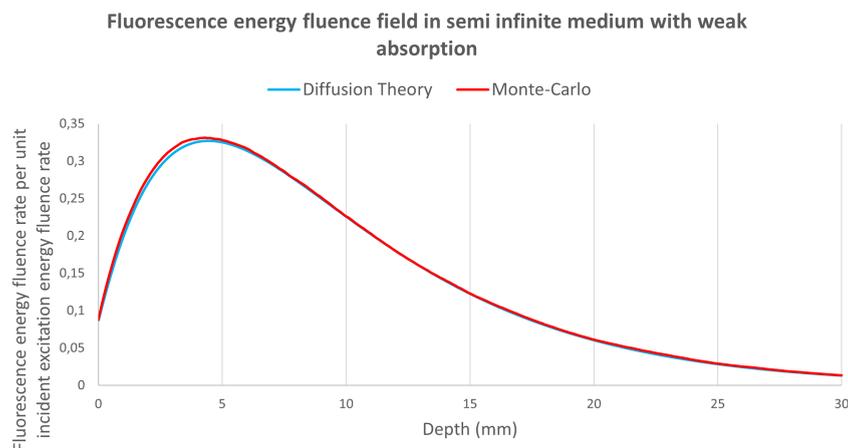


Figure 3: Comparaison des solutions obtenues par simulation Monte-Carlo avec le modèle analytique de [7]. Les propriétés optiques du milieu sont : $\sigma_{\lambda_x} = 1,4$, $\kappa_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F} = 0,005$, $\kappa_{\lambda_x}^0 = 0,015$, $\sigma_{\lambda_F} = 1$, $\kappa_{\lambda_F} = 0,009$ et $\eta_{\lambda_x \rightarrow \lambda_F} = 1$. Les coefficients d'absorption et de diffusion sont en mm^{-1} .

analytique du problème simplifié et les résultats de simulation avec fluorescence. Les résultats de simulation reproduisent de façon satisfaisante la solution analytique dans ce cas d'étude.

4.2 Problème à une forme de protoporphyrine

La modélisation de la fluorescence dans un fantôme optique aux propriétés connues en supposant qu'il ne contient qu'une seule forme de fluorescence est le cas d'étude le plus simple pour une validation expérimentale. De plus, ce problème est intéressant car il n'est pas impossible d'observer une seule forme de protoporphyrine expérimentalement. Dans certaines régions des glioblastomes la forme PpIX634 domine très largement et la forme PpIX620 peut être indiscernable.

Une mesure de spectre sur le fantôme optique C05 semble traduire la présence dans la solution de la forme PpIX634 seule. Le spectre de ce fantôme sert donc de référence ici pour la validation des résultats de simulations (voir figure 4). Le spectre produit par la simulation conserve une forme très proche du spectre mesuré. La différence d'amplitude entre l'expérience et la simulation traduit le facteur de calibration regroupant les inconnues (erreur sur la puissance du laser en sortie de fibre, mauvaise connaissance de la valeur du rendement quantique de la PpIX634 dans ce mélange).

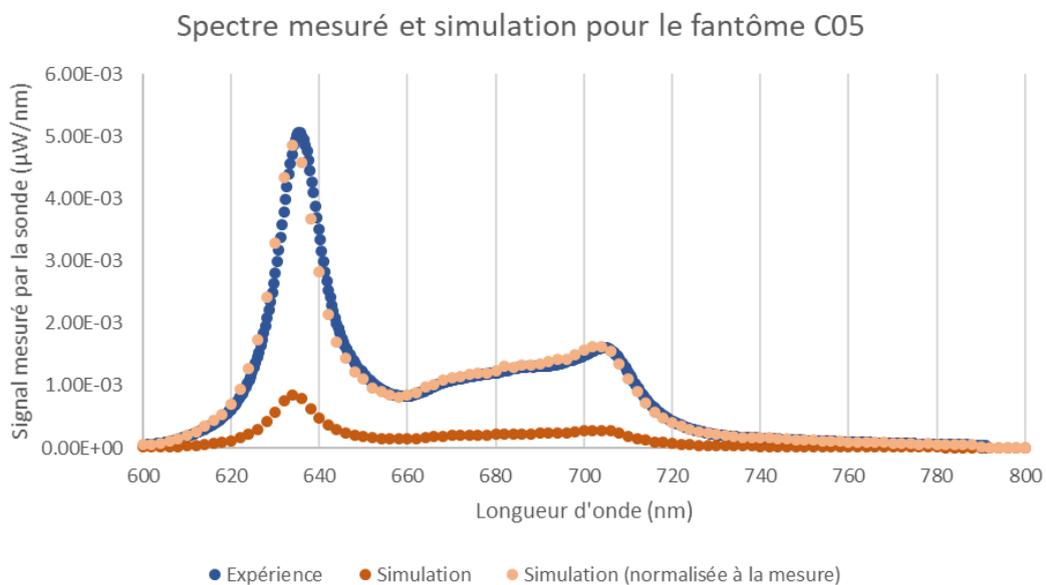


Figure 4: Comparaison du résultat de la simulation (algorithme de Monte-Carlo analogue classique) avec la mesure expérimentale (convertie en $\mu\text{W}/\text{nm}$). Le troisième spectre correspond au signal de la simulation multiplié par le rapport des intégrales, dans le seul but de comparer la forme des spectres. La composition en volume du fantôme C05 considéré est 50mL de PBS, 0.5mL de solution de PpIX, 0,005mL d'encre de Chine et 0,2mL d'intralipides (il n'y a pas de base).

5 Conclusion

Un modèle de transfert radiatif avec fluorescence est présenté dans cette étude. Des simulations avec la méthode de Monte-Carlo ont notamment été validées avec des spectres de fluorescence expérimentaux mesurés sur des fantômes optiques avec une seule forme de protoporphyrine.

Nos prochains travaux porteront sur l'étude expérimentale et numérique de fantômes avec les deux formes de protoporphyrine PpIX620 et PpIX634. Un des objectifs sera d'identifier à partir des spectres mesurés les rendements quantiques et/ou les concentrations en PpIX620 et PpIX635. Des méthodes de Monte-Carlo symbolique [8, 9] pourront en particulier aider à l'identification des concentrations des biomarqueurs fluorescents.

References

- [1] Quinn T. Ostrom, Luc Bauchet, Faith G. Davis, Isabelle Deltour, James L. Fisher, Chelsea Eastman Langer, Melike Pekmezci, Judith A. Schwartzbaum, Michelle C. Turner, Kyle M. Walsh, Margaret R. Wrensch, and Jill S. Barnholtz-Sloan. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncology*, 16(7):896–913, 05 2014.
- [2] K. Petrecca, M-C Guiot, V. Panet-Raymond, and L. Souhami. Failure pattern following complete resection plus radiotherapy and temozolomide is at the resection margin in patients with glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*, 111:19–23, 2013.
- [3] W. Stummer, S. Stocker, S. Wagner, H. Stepp, C. Fritsch, C. Goetz, A. Goetz, R. Kefmann, and H. Reulen. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery*, 42(3):518–526, 1998.
- [4] McCracken DJ, Schupper AJ, Lakomkin N, Malcolm J, Painton Bray D, and Hadjipanayis CG. Turning on the light for brain tumor surgery: A 5-aminolevulinic acid story. *Neuro Oncology*, 24(6):52–61, 2022.
- [5] P.A. Valdés, F. Leblond, V.L. Jacobs, B.C Wilson, K.D. Paulsen, and D.W. Roberts. Quantitative, spectrally-resolved intraoperative fluorescence imaging. *Scientific Reports*, 2(1):2045–2322, 2012.
- [6] Bruno Montcel, Laurent Mahieu-Williams, Xavier Armoiry, David Meyronet, and Jacques Guyotat. Two-peaked 5-ala-induced ppix fluorescence emission spectrum distinguishes glioblastomas from low grade gliomas and infiltrative component of glioblastomas. *Biomed. Opt. Express*, 4(4):548–558, Apr 2013.
- [7] Mycek M.-A. and Pogue B.W., editors. *Handbook of Biomedical Fluorescence (1st ed.)*. CRC Press., 2003.
- [8] Y. Maanane, M. Roger, A. Delmas, M. Galtier, and F. André. Symbolic Monte Carlo method applied to the identification of radiative properties of a heterogeneous material. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, 249(107019), 2020.
- [9] O. Said, M. Galtier, L. Mahieu-Williams, B. Montcel, and M. Roger. A Monte Carlo approach for brain functional mapping. In *Proceedings of the 10th International Symposium on Radiative Transfer, RAD-23*, 2023.

Remerciements Ce travail a été financé en partie par une subvention publique de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre du plan d'investissement " France 2030 ", dont la référence est EUR MANUTECH SLEIGHT - ANR-17-EURE-0026 et en partie par l'Université de Lyon à travers le programme LABEX PRIMES sous la subvention ANR-11-LABX-0063 dans le cadre du programme Investissements d'Avenir sous la subvention ANR-11-IDEX-0007, opéré par l'Agence Nationale de la Recherche.