

Les nouveaux outils analytiques dans le diagnostic du carcinome hépatocellulaire : les aptamères et les aptacapteurs

Ioana Manea

Discipline de Chimie Analytique
Département Pharmacie I, Faculté de Pharmacie
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
ioana.manea@elearn.umfcluj.ro

Bogdan Feier

Discipline de Chimie Analytique
Département Pharmacie I, Faculté de Pharmacie
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
feier.george@umfcluj.ro

Cecilia Cristea

Discipline de Chimie Analytique
Département Pharmacie I, Faculté de Pharmacie
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
ccristea@umfcluj.ro

Magdolna Casian

Discipline de Chimie Analytique
Département Pharmacie I, Faculté de Pharmacie
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
magdolna.casian@elearn.umfcluj.ro

Noemí de-los-Santos-Álvarez

Discipline de Chimie Analytique
Département de Chimie Physique et Analytique
Université de Oviedo
Oviedo, Espagne
santosnoemi@uniovi.es

María Jesús Lobo Castañón

Discipline de Chimie Analytique
Département de Chimie Physique et Analytique
Université de Oviedo
Oviedo, Espagne
mjlc@uniovi.es

Oana Hosu-Stancioiu

Discipline de Chimie Analytique
Département Pharmacie I, Faculté de Pharmacie
Université de Médecine et Pharmacie «Iuliu Hatieganu»
Cluj-Napoca, Roumanie
hosu.oana@umfcluj.ro

Résumé — Le carcinome hépatocellulaire (CHC) reste l'une des principales causes de mortalité par cancer dans le monde, la détection précoce restant un défi majeur [1]. Les biomarqueurs traditionnels, tels que l'alpha-foetoprotéine, présentent une sensibilité et une spécificité limitées, soulignant le besoin d'outils moléculaires plus fiables [2]. Le développement de l'évolution systématique des ligands par enrichissement exponentiel (SELEX) a permis la découverte des aptamères, de courtes séquences d'acides nucléiques présentant une forte affinité et spécificité pour leurs cibles [3]. Par des cycles itératifs de sélection et d'amplification, SELEX enrichit les banques d'oligonucléotides en ligands à haute affinité, qui peuvent ensuite être optimisés à l'aide d'approches bioinformatiques et *in silico*. L'utilisation de particules magnétiques a amélioré l'efficacité de la SELEX, réduisant le nombre de cycles et renforçant la spécificité des cibles [4]. Les aptamères ainsi obtenus offrent stabilité chimique, faible immunogénicité et facilité de fonctionnalisation, les rendant particulièrement adaptés aux applications diagnostiques et thérapeutiques [3]. Dans le contexte du CHC, ils offrent une base pour le développement de plateformes de détection sensibles et spécifiques de biomarqueurs tels que Golgi protein 73, permettant un diagnostic précoce et pouvant potentiellement orienter des stratégies thérapeutiques personnalisées.

Mots-clés — Aptamère, SELEX, Carcinome hépatocellulaire, Diagnostic précoce

I. INTRODUCTION

Selon le rapport GLOBOCAN le plus récent, le cancer du foie est le sixième cancer le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde et la troisième cause de mortalité liée au cancer. De plus, l'incidence du cancer du foie devrait augmenter de plus de 65 %, la mortalité mondiale devant atteindre 1,26 million de cas d'ici 2045 [1]. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le type de cancer du foie le plus répandu, représentant environ 90 % de l'ensemble des cas [5].

Les maladies chroniques du foie, notamment les hépatites B et C, la stéatopathie hépatique associée à des

dysfonctionnements métaboliques et la cirrhose, sont les principaux facteurs favorisant le développement du CHC [6]. Au fil des années, le risque lié à l'infection par le virus de l'hépatite C a considérablement diminué grâce à des traitements antiviraux efficaces [7]. Par ailleurs, le diabète de type 2, l'obésité et l'âge avancé sont des facteurs de risque bien établis pour la progression de la fibrose vers la cirrhose [8].

Malgré les progrès des techniques d'imagerie et des marqueurs sériques, le diagnostic précoce du CHC reste un défi. Les méthodes d'imagerie standard, telles que l'échographie, la tomodensitométrie et l'imagerie par résonance magnétique, présentent souvent une sensibilité limitée, en particulier pour les petites lésions ou un foie cirrhotique [2]. Par conséquent, les marqueurs moléculaires, incluant les biomarqueurs sériques et tumoraux, sont particulièrement précieux pour améliorer la sensibilité et la spécificité de la détection précoce du CHC. L'alpha-foetoprotéine (AFP) est le biomarqueur le plus utilisé pour la surveillance et le diagnostic du CHC, avec des taux sériques généralement compris entre 0 et 40 ng/mL chez l'adulte sain, mais dépassant 400 ng/mL dans les cas de CHC [9]. En tant que seul biomarqueur de phase V disponible pour le dépistage du CHC, l'AFP est souvent combinée aux techniques d'imagerie [10]. Cependant, elle n'est pas idéale pour la détection précoce du CHC en raison de sa faible spécificité, les taux élevés pouvant également apparaître dans la cirrhose hépatique ainsi que dans les cancers gastrique, pancréatique et pulmonaire. De plus, sa sensibilité limitée constitue un obstacle, certains patients atteints de CHC ne sécrétant pas d'AFP [2]. Pour compléter l'AFP, la Des-γ-Carboxy Prothrombine (DCP) a été explorée comme marqueur alternatif, bien que sa fiabilité soit compromise chez les patients présentant une carence en vitamine K, une malnutrition liée à l'alcoolisme ou prenant des anticoagulants oraux [11].

Au-delà de l'AFP et de la DCP, d'autres biomarqueurs présentent un intérêt prometteur. La protéine Golgi 73 (GP-73), une protéine transmembranaire, offre une sensibilité et une spécificité supérieures à celles de l'AFP pour la détection précoce du CHC. Pour une valeur seuil de 35 ng/mL, la GP-73 a présenté une sensibilité et une spécificité respectivement de 74,6 % et 97,4 % dans la détection du CHC [12]. L'efficacité du traitement du CHC est étroitement liée au diagnostic précoce, étant donné que les approches curatives telles que la résection chirurgicale et l'ablation tumorale sont adaptées aux patients présentant une charge tumorale limitée et une fonction hépatique préservée[5], [10].

II. TECHNOLOGIE SELEX ET DÉVELOPPEMENT DES APTAMÈRES

L'augmentation de l'incidence et de la mortalité du cancer du foie représente un fardeau sanitaire important, nécessitant des stratégies innovantes de diagnostic précoce et de traitement personnalisé [9]. Le développement de la technologie SELEX (évolution systématique des ligands par enrichissement exponentiel) a permis la découverte des aptamères, des agents de liaison moléculaire à haute affinité sélectionnés à partir de grandes banques d'acides nucléiques. Cette avancée a élargi le potentiel fonctionnel des oligonucléotides d'ADN et d'ARN dans le diagnostic et le traitement du CHC. Les aptamères offrent plusieurs avantages, notamment la facilité de synthèse, la reproductibilité, la simplicité de modification chimique, une grande stabilité et une faible immunogénicité [3].

Le processus SELEX implique des cycles itératifs de sélection et d'amplification qui enrichissent progressivement la banque en séquences d'oligonucléotides à haute affinité, favorisant finalement celles présentant la plus forte liaison avec la molécule cible. Il commence généralement par une bibliothèque contenant 10^{14} à 10^{16} séquences d'oligonucléotides uniques, composée d'une région centrale aléatoire de 30 à 50 nucléotides encadrée par des sites de liaison pour amorces nécessaires à l'amplification enzymatique. Cette bibliothèque est incubée avec la molécule cible, après quoi les séquences non liées sont éliminées par lavage, tandis que les séquences présentant une affinité sont retenues, élues et amplifiées par réaction en chaîne par polymérase (PCR). L'ADN double brin (ADNdb) obtenu est ensuite converti en ADN simple brin (ADNsb) pour être utilisé lors des cycles de sélection suivants [4].

Pour améliorer la spécificité et réduire les interactions non spécifiques, des étapes supplémentaires peuvent être intégrées au protocole SELEX, telles que la sélection négative (incubation de la banque avec la matrice d'immobilisation en l'absence de la cible) et la contre-sélection (utilisation d'analogues structuraux de la cible pour éliminer les séquences cross-réactives). En général, 8 à 15 cycles de sélection sont réalisés pour enrichir la banque en candidats aptamères à haute affinité, qui sont ensuite clonés et séquencés [4]. Après l'identification de la séquence primaire, les aptamères sont analysés à l'aide d'outils bioinformatiques et de modélisation *in silico* afin d'orienter les stratégies d'optimisation, incluant la troncature et les modifications chimiques, visant à améliorer l'affinité de liaison et la stabilité *in vivo* [13]. Enfin, leurs affinités de liaison sont évaluées à l'aide de techniques telles que la résonance plasmonique de surface (SPR), la calorimétrie de titration isotherme (ITC) ou la titration par fluorescence [4].

Dans le cas des protocoles SELEX classiques, la séparation des fractions d'oligonucléotides liées et non liées s'effectue par filtration sur membrane [14], chromatographie par affinité sur colonne [15] ou lavage des plaques microtitrées [16], ce qui présente l'inconvénient d'une faible efficacité de partition et nécessite davantage de cycles de sélection pour obtenir des aptamères à haute affinité. Avec le développement de la technologie SELEX au cours de la dernière décennie, différentes stratégies alternatives ont été proposées pour améliorer la sélection des aptamères. L'introduction du SELEX basé sur des particules magnétiques (MBs-SELEX) a considérablement amélioré la technologie de sélection conventionnelle, tant en termes d'efficacité que de rapidité. L'utilisation de particules paramagnétiques comme supports solides pour l'immobilisation de la molécule cible offre plusieurs avantages, tels que l'emploi de faibles volumes d'échantillon dans la plage microlitique (50–250 μ L), une partition rapide et facile grâce à l'application d'un champ magnétique, la possibilité de lavages rigoureux avec un risque minimal de perte, ainsi que l'amplification PCR directement à partir de la surface des particules magnétiques [4]. Une représentation schématique de la technologie MBs-SELEX est présentée à la Fig. 1.

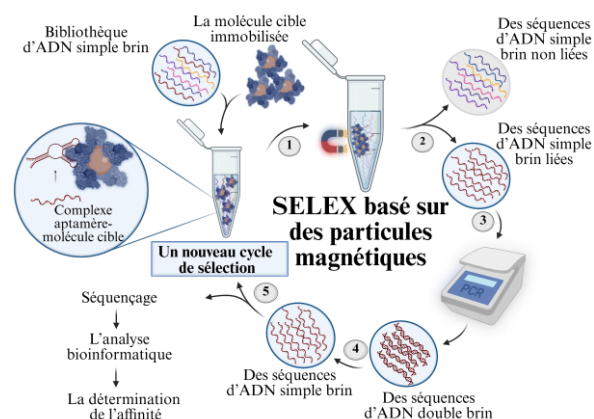


Fig. 1. Représentation schématique de la technologie MBs-SELEX classique. Créé avec [Biorender.com](https://biorender.com).

III. DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES MÉTHODES DE DÉTECTION POUR GP-73

Les méthodes électrochimiques représentent une alternative potentielle aux approches conventionnelles, offrant une stratégie plus rapide, économique et sélective. Ces techniques utilisent des électrodes pouvant être fonctionnalisées avec des éléments biomimétiques tels que des aptamères ou des nanomatériaux afin d'améliorer la spécificité envers la GP-73.

Bien que la GP-73 ne soit pas encore largement utilisée en pratique clinique courante, le développement de capteurs pour ce biomarqueur suscite un intérêt considérable en raison de sa sensibilité et de sa spécificité supérieure à celles de l'AFP. Plusieurs stratégies innovantes de détection ont été rapportées. Par exemple, le MoS_2 a été combiné avec le ferrocène et des nanoparticules de Pd (NPs), servant simultanément de quenchers de fluorescence et de molécules électroactives dans une détection à double mode. Cette approche a considérablement réduit la limite de détection (LOD) pour la fluorescence, tandis que la détection

électrochimique s'est avérée encore plus sensible (0,0425 ng/mL) [17].

Une autre stratégie a consisté en des aptacapteurs électrochimiques de type sandwich, dans lesquels les aptamères étaient immobilisés sur des nanostructures portant des molécules électroactives [18] ou présentant une activité de type peroxydase via l'hémin, qui catalyse l'oxydation du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). L'utilisation du TMB comme replacant de l'enzyme (nanozyme) a permis une détection électrochimique sensible [19]. Une approche alternative a employé une structure métallo-organique à base de Cu combiné avec l'hémin [20], bien que sa sensibilité ne soit pas comparable à celle des systèmes basés sur les nanozymes.

L'un des aptacapteurs électrochimiques les plus performants pour la GP-73 reposait sur un mécanisme de déplacement de brin complémentaire, atteignant une LOD de 0,15 pg/mL [21]. De plus, la détection de glycoformes spécifiques de la GP-73 pourrait offrir des avantages de diagnostics par rapport à la mesure du niveau total de protéine. Par exemple, un aptacapteur amperométrique a été développé pour détecter la GP-73 fucosylée, un biomarqueur potentiel permettant de distinguer le CHC d'autres maladies hépatiques. Dans ce dispositif, l'aptamère servait de sonde de capture, tandis qu'un conjugué lectine-avidine immobilisé sur des nanoparticules d'or (AuNPs) reconnaissait la molécule de fucose. Les AuNPs fournissaient une grande surface pour l'immobilisation de la lectine, permettant ainsi une capacité élevée de chargement de la peroxydase de raifort biotinylée via les interactions avidine-biotine [22].

IV. CONCLUSIONS

Le CHC demeure un défi majeur de santé publique à l'échelle mondiale en raison de l'augmentation de son incidence, de sa mortalité élevée et des difficultés de détection précoce. Les biomarqueurs traditionnels tels que l'AFP présentent une sensibilité et une spécificité limitées, soulignant le besoin d'alternatives plus fiables. La GP-73 s'est imposée comme un biomarqueur prometteur, et le développement de capteurs électrochimiques basés sur des aptamères offre une détection hautement sensible, rapide et économique. Les avancées de la technologie SELEX et des plateformes assistées par nanomatériaux permettent un ciblage précis et un diagnostic précoce, essentiels pour un traitement efficace du CHC. Ces stratégies présentent un potentiel considérable pour améliorer les résultats cliniques et guider la prise en charge personnalisée du cancer du foie.

V. REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le Ministère Roumain de l'Éducation et de la Recherche, PN-IV-P1-PCE-2023-1104, n° 62PCE/03 janvier 2025, ainsi que par la subvention interne de l'Université de Médecine et Pharmacie Iuliu Hațieganu n° 776/37/13 janvier 2025.

RÉFÉRENCES

- [1] "GLOBOCAN - World Health Organisation." [Online]. Available: <https://gco.iarc.fr/today/en>
- [2] T. Hennedige, "Advances in computed tomography and magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma," *World J Gastroenterol*, vol. 22, no. 1, p. 205, 2016, doi: 10.3748/wjg.v22.i1.205.
- [3] M. Casian, I. Manea, O. Hosu-Stancioiu, M. J. Lobo Castañón, N. de los-Santos-Álvarez, and C. Cristea, "Targeting hepatocellular carcinoma with aptamers: from biomarker detection to therapeutic applications," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 191, p. 118346, Oct. 2025, doi: 10.1016/j.trac.2025.118346.
- [4] I. Manea, M. Casian, O. Hosu-Stancioiu, N. de los-Santos-Álvarez, M. J. Lobo-Castañón, and C. Cristea, "A review on magnetic beads-based SELEX technologies: Applications from small to large target molecules," *Anal Chim Acta*, vol. 1297, p. 342325, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.aca.2024.342325.
- [5] J. M. Llovet *et al.*, "Hepatocellular carcinoma," *Nat Rev Dis Primers*, vol. 7, no. 1, p. 6, Jan. 2021, doi: 10.1038/s41572-020-00240-3.
- [6] K. A. McGlynn, J. L. Petrick, and H. B. El-Serag, "Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma," *Hepatology*, vol. 73, no. S1, pp. 4–13, Jan. 2021, doi: 10.1002/hep.31288.
- [7] F. Kanwal, J. Kramer, S. M. Asch, M. Chayanupatkul, Y. Cao, and H. B. El-Serag, "Risk of Hepatocellular Cancer in HCV Patients Treated With Direct-Acting Antiviral Agents," *Gastroenterology*, vol. 153, no. 4, pp. 996–1005.e1, Oct. 2017, doi: 10.1053/j.gastro.2017.06.012.
- [8] C. Estes, H. Razavi, R. Loomba, Z. Younossi, and A. J. Sanyal, "Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease," *Hepatology*, vol. 67, no. 1, pp. 123–133, Jan. 2018, doi: 10.1002/hep.29466.
- [9] F. Safri, R. Nguyen, S. Zerehpooeshnesfchi, J. George, and L. Qiao, "Heterogeneity of hepatocellular carcinoma: from mechanisms to clinical implications," *Cancer Gene Ther*, vol. 31, no. 8, pp. 1105–1112, Aug. 2024, doi: 10.1038/s41417-024-00764-w.
- [10] E. Kim and P. Viatour, "Hepatocellular carcinoma: old friends and new tricks," *Exp Mol Med*, vol. 52, no. 12, pp. 1898–1907, Dec. 2020, doi: 10.1038/s12276-020-00527-1.
- [11] F. Piñero, M. Dirchwolf, and M. G. Pessôa, "Biomarkers in Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis, Prognosis and Treatment Response Assessment," *Cells*, vol. 9, no. 6, p. 1370, Jun. 2020, doi: 10.3390/cells9061370.
- [12] Y.-T. Chan *et al.*, "Biomarkers for diagnosis and therapeutic options in hepatocellular carcinoma," *Mol Cancer*, vol. 23, no. 1, p. 189, Sep. 2024, doi: 10.1186/s12943-024-02101-z.
- [13] Z. Chen *et al.*, "Chemically modified aptamers for improving binding affinity to the target proteins via enhanced non-covalent bonding," *Front Cell Dev Biol*, vol. 11, Feb. 2023, doi: 10.3389/fcell.2023.1091809.
- [14] R. Helwa and J. D. Hoheisel, "Analysis of DNA-protein interactions: from nitrocellulose filter binding assays to microarray studies," *Anal Bioanal Chem*, vol. 398, no. 6, pp. 2551–2561, Nov. 2010, doi: 10.1007/s00216-010-4096-7.
- [15] T. Bhardwaj, A. S. Rathore, and S. K. Jha, "The selection of highly specific and selective aptamers using modified SELEX and their use in process analytical techniques for Lucentis bioproduction," *RSC Adv*, vol. 10, no. 48, pp. 28906–28917, 2020, doi: 10.1039/D0RA03542D.
- [16] M. Shorie and H. Kaur, "Microtitre Plate Based Cell-SELEX Method," *Bio Protoc*, vol. 8, no. 20, 2018, doi: 10.21769/BioProtoc.3051.
- [17] G. Li *et al.*, "Fluorescence/electrochemical dual-mode strategy for Golgi protein 73 detection based on molybdenum disulfide/ferrocene/palladium nanoparticles and nitrogen-doped graphene quantum dots," *Microchimica Acta*, vol. 191, no. 4, p. 190, Apr. 2024, doi: 10.1007/s00604-024-06262-y.
- [18] J. Liang *et al.*, "An electrochemical biosensor based on MoS₂-PANi@Fc for the detection of Golgi protein 73," *Microchemical Journal*, vol. 205, p. 111182, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.microc.2024.111182.
- [19] G. Li *et al.*, "Dual-signal sandwich-type aptasensor based on H-rGO-Mn₃O₄ nanozymes for ultrasensitive Golgi protein 73 determination," *Anal Chim Acta*, vol. 1221, p. 340102, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.aca.2022.340102.
- [20] X. Tan *et al.*, "Electroactive Hemin-Cu-MOF nanocomposites driven ratiometric electrochemical aptasensor for sensitive Golgi protein 73 detection," *Sens Actuators B Chem*, vol. 423, p. 136839, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.snb.2024.136839.
- [21] G. Li *et al.*, "Competitive electrochemical aptasensor for high sensitivity detection of liver cancer marker GP73 based on rGO-Fc-PANi nanocomposites," *Bioelectrochemistry*, vol. 160, p. 108767, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.bioelechem.2024.108767.
- [22] J. Li, B. Wang, S. Gu, Y. Yang, Z. Wang, and Y. Xiang, "Amperometric low potential aptasensor for the fucosylated Golgi protein 73, a marker for hepatocellular carcinoma," *Microchimica Acta*, vol. 184, no. 9, pp. 3131–3136, Sep. 2017, doi: 10.1007/s00604-017-2334-9.