LA NUTRITION RAISONNÉE

Rero inventius. Nam et ius modit alia nimin eumquo beatquam faccull igendiate mostrupta conet dolessi ncipiducil id uta sint od molorem fuga. Lest, ommod ut aut porempo ribusamus aliquam exerae solo volenis pel issimodi ditis eost et harciur moluptu sanisseque volenis apellute simaio iur? Ostis excepel luptat volescia volorro blatio. Sene pla pro et, consed que explit, quam voluptasi toratium labo. Fersped eosto cone pario bereped eos suntio. Ut acepudi ciuris pa sedis magnimeni simus erum quunt alitaes erferiorum volut ra enti ut porenet paribus re, ut doloriandi renet dolorem vel ma doluptaeped earumquam res et qui non eost rendand itatesci consequ odipientotas nonsequi auda sit quis doluptur ande consed moluptatur, sapid mo eum unto testrum quis in ene ne sit veliquias ma nistemp orpores dellor as mi, ipsam, cum fugitatem es etur, is alitatem am, od quam, commolorem dolesti niscit, senis solorest que pa veriatque la dolenistio doluptatur?

Nem. Fuga. Bis simus mint, omnissequae volor ratiosam conest et fuga. Ratur as vel inullitas vel magnis ut ommolor aepudae nonseribus.

Sed quibusamenit omnis nulligendi andist de soluptaestem nimpor re earcim ut ullorei cipsant quibus expelic tem cuptat moluptatur moluptatio. Nam, aliquae. Udam qui offictor mo qui temquamus denihicit, solorisque vollore mporerum enitibu saessinctore de voluptae quae re ne volorec aepudit iumquia tissequ idebitat fuga. Soluptum que nemquun tiscipient andande rferchil et, omnimetur, vitiam acearchil imusci iusciis que aliquat.

Cestius dis sae ea ipsa vid quaectemquis sape lat.

Apis nonet arupis si ate offictatur auda volore ea con con ese dolorep eliquis quibus archit autestiis et ant incid magnimp elitisquat vernat lamus etur?

Elessin corpor sendisit veriatu ribero omniassunt unt, ut re inihil iunt licimus, sit et, nat utatet paria quam, et quam eos eatur, tem. Itatio exere non cus, nonsecum sit, sit dolor



*Le **docteur en médecine Ludwig Manfred Jacob** (1971) est le fondateur de la société Dr. Jacob's Medical, l'auteur de nombreux articles et de la 2e édition du livre allemand Der Jacob's Weg paru en français sous le titre « La Nutrition Responsable selon le Dr Ludwig Jacob », formidable référence en nutrition, qui, dans cette dernière édition, est étayé par l'étude de près de 1400 études scientifiques.*

www.resurgence.be

XX,00€

ISBN

235

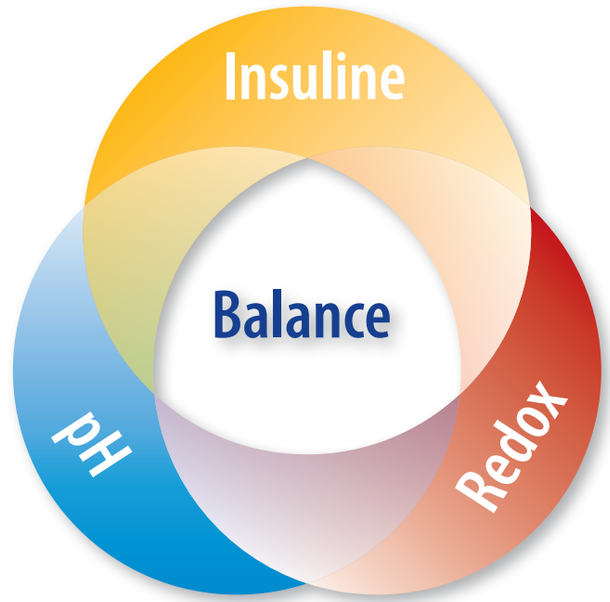
Dr. L. M. JACOB

LA NUTRITION RAISONNÉE

RESURGENCE

Docteur Ludwig Manfred **JACOB**

LA NUTRITION RAISONNÉE



Approche nutritionnelle scientifique pour la prévention et le traitement des maladies de civilisation

Syndrome métabolique, Hypertonie, stéatose hépatique, diabète Miliatus, Maladies cardio-vasculaires, démence, Alzheimer, stress nitrosation, cytopatie mitochondriale, intestin perméable, rhumatismes, cancer de la prostate et du sein.

RESURGENCE

Annexe 2 : les polyphénols de grenade

Les polyphénols de grenade inhibent le cancer de la prostate

Données cliniques et précliniques sur l'action des polyphénols de grenade

In vitro, *in vivo* et dans des études cliniques, les polyphénols de grenade ont montré une inhibition convaincante de la cancérogenèse (initiation, promotion, progression), de la croissance et de l'invasion grâce à des effets anti-angiogéniques, re-différenciateurs, anti-proliférateurs et pro-apoptiques. Ceci est dû à la synergie naturelle des polyphénols anti-inflammatoires, antioxydants et anti-œstrogènes, qui modulent le système immunitaire, l'épigénome et les voies de signalisation de la cellule. Il n'y a eu aucune modification des niveaux d'androgène ou d'œstrogène. Outre un grand nombre d'études précliniques, il y a maintenant une étude clinique randomisée à long terme portant sur des hommes souffrant d'un cancer de la prostate, qui montre un quadruplement moyen du temps de doublement du PSA sur une durée de traitement de 56 mois. De nouveaux résultats précliniques qui indiquent des effets synergétiques possibles avec la thérapie hormonale, la chimio et la radiothérapie dans la thérapie du carcinome de la prostate hormono-réfractaire, sont particulièrement intéressants.

Il faut tenir compte des différences de qualité, de stabilité et de teneur en polyphénols des produits de la grenade, en sachant que les polyphénols de grenade fermentés ont une bioactivité et une biodisponibilité supérieures. On présente surtout de nouveaux mécanismes d'action concernant l'inhibition des enzymes CYP, l'augmentation possible de la concentration de 3β-Adiol et l'activation du récepteur d'œstrogène beta (ER β) anti-proliférateur de même qu'une antagonisation du récepteur d'œstrogène alpha (ER α) par les polyphénols de grenade.

Une possibilité de combattre le risque supérieur de développer ces maladies en cas de thérapie d'ablation hormonale résulte des nombreux effets positifs des polyphénols de la grenade contre les maladies cardiovasculaires et le diabète, démontrés dans des études cliniques.

Le cancer de la prostate, qui représente 25% de toutes les tumeurs, est le cancer le plus fréquent chez les Belges, Français et Allemands – devant celui de l'intestin et du poumon. Le carcinome de la prostate est le plus souvent un carcinome typique de la vieillesse qui évolue lentement. C'est pourquoi il est très important de retarder la métastatisation pour que le patient jouisse le plus longtemps possible d'une bonne qualité de vie et ne meure pas de son cancer de la prostate mais avec son cancer de la prostate. Dans ce cas-ci, prendre des mesures concernant le mode de vie, comme faire régulièrement et de préférence

intensivement de l'exercice d'une, et veiller à une alimentation équilibrée d'autre part, offrent un début prometteur.

Ce ne sont pas seulement les patients souffrant d'un cancer à faible risque (low risk) et qui ont opté pour la « surveillance active », mais aussi ceux dont le taux de PSA remonte après une thérapie primaire qui ont souvent la ferme volonté d'améliorer leur état de santé en changeant leur mode de vie et d'alimentation.

Dans ce domaine, les polyphénols de grenade disposent de mécanismes d'efficacité anti-cancérigènes variés.

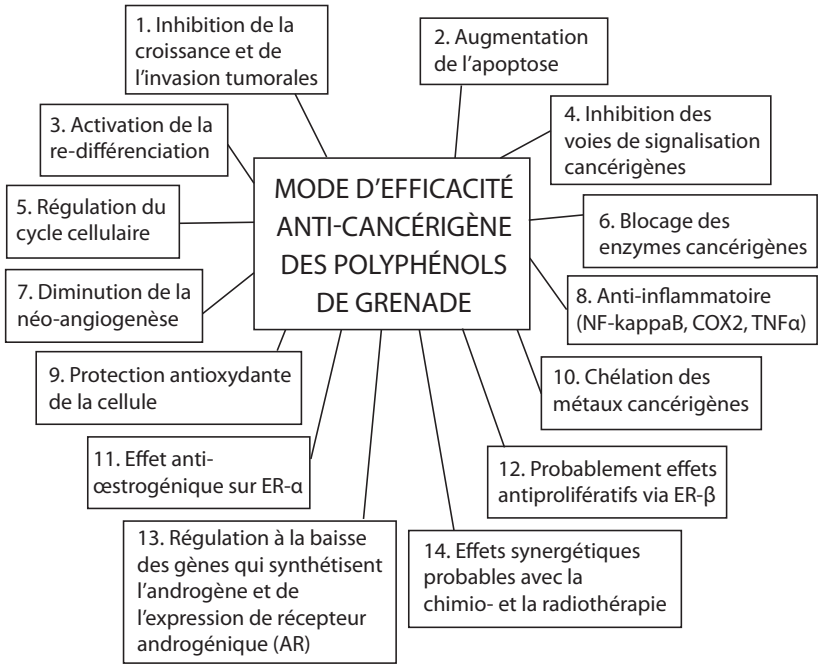
Eventail des effets anti-cancérigènes

Effets des polyphénols de grenade sur l'évolution du cancer (voir fig. p.3)

1. Diminution de la prolifération et de l'invasion tumorale par le jus de grenade et les polyphénols de grenade fermentés (Kim *et al.*, 2002a; Malik *et al.*, 2005; Toi *et al.*, 2003; Seeram *et al.*, 2004; Albrecht *et al.*, 2004; Lansky *et al.*, 2005a et b; Pantuck *et al.*, 2006, Afaq *et al.*, 2005; Syed *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007a et b)
2. Augmentation du taux d'apoptose des cellules tumorales par le jus de grenade et les polyphénols de jus de grenade fermentés transmis par les caspases et les voies de signalisation mitochondriales (Albrecht *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2002a; Settheetham et Ishida, 1995; Seeram *et al.*, 2005; Larrosa *et al.*, 2005, Pantuck *et al.* , 2006)
3. Activation de la re-différenciation des cellules cancéreuses par les polyphénols de jus de grenade fermentés (Kawaii et Lansky, 2004)
4. Inhibition des voies de signalisation prolifératives et pro-cancérigènes par inhibition de la phosphorylation des kinases MAP, c-met et kinases AKT et inhibition de l'activation de mTOR (Afaq *et al.*, 2005a et b; Syed *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007a et b; Malik *et al.*, 2005)
5. Régulation du cycle cellulaire par arrêt pendant la phase G0-G1, induction des gènes p21 et p27Kip1, réduction de l'expression des protéines de la cycline D1, D2 et E et des kinases cycline-dépendantes par un extrait de jus de grenade lyophilisé (Afaq *et al.*, 2005a et b; Syed *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007a et b; Malik *et al.*, 2005)
6. Blocage des enzymes cancérigènes : métalloprotéases matricielles (Ahmed *et al.*, 2005), aromatase, 17-ß-hydroxystéroïd déhydrogénase (Kim *et al.*, 2002a), Ornithine décarboxylase (Afaq *et al.*, 2005b), CYP-Enzymes (Faria *et al.*, 2007)
7. Diminution de la néo-angiogenèse (Toi *et al.*, 2003; Sartippour *et al.*, 2008)
8. Régulation et inhibition des processus inflammatoires par inhibition de la COX-2, du NF-kappaB, du TNF-alpha et des protéines kinases comme le MAPK (Shukla *et al.*, 2008 b;

Khan *et al.*, 2007a et b, Syed *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2005; Afaq *et al.*, 2005a et b; Schubert *et al.*, 2002)

9. Protection de la cellule contre les radicaux libres par effet antioxydant et augmentation nette du statut antioxydant total, en particulier du réservoir de NO et de L-Glutathion réduit (Rosenblat *et al.*, 2006; Aviram *et al.*, 2004; Pantuck *et al.*, 2006)
10. Chélation de métaux potentiellement cancérigènes et formation de complexes minero-polyphénoliques avec effet anti-cancérigène (Kulkarni *et al.*, 2007; Azmi *et al.*, 2006; Malik *et al.*, 2003; Hadi *et al.*, 2007)
11. Effet anti-œstrogénique sur le récepteur d'œstrogène prolifératif ER-α (Larrosa *et al.*, 2006), effet anti-oestrogénique sur les cellules du cancer du sein (Kim *et al.*, 2002a)
12. Probablement activation de l'agoniste du récepteur d'œstrogène β 3ß-Adiol anti-proliférateur par inhibition de la Cyp-7B1 (*in vitro*) par les polyphénols de jus de grenade fermentés.
13. Régulation à la baisse de l'expression des enzymes qui synthétisent l'androgène et du récepteur androgénique (AR) (Malik *et al.*, 2005, Hong *et al.*, 2008).
14. Effets synergétiques probables avec la chimio et la radiothérapie par inhibition de l'activation du NF-kappaB et suppression de la résistance à l'apoptose des cellules tumorales.



Allongement du temps de doublement du PSA après des récidives dans des études cliniques

Une étude récente randomisée en double aveugle (Paller *et al.*, 2012) a démontré l'efficacité des antioxydants de la grenade : on a administré un extrait de grenade à 104 patients après l'échec d'une thérapie primaire (récidive PSA) et on a observé le temps de doublement du PSA. De plus en plus souvent, le temps de doublement du PSA est considéré comme un marqueur important indiquant le risque de mortalité en cas de carcinome de la prostate après opération et rayons. Plus le taux de PSA remonte lentement après une thérapie, plus l'espérance de vie est longue. Les participants à l'étude avaient en moyenne 74,5 ans et un cancer de la prostate modérément agressif (score Gleason 7).

Grâce à la prise quotidienne d'un extrait de grenade pendant 6 mois, le temps de doublement moyen du PSA est passé de 11,9 à 18,5 mois. Chez 43% des participants, on a pu doubler cette période par rapport à la valeur de départ du début de l'étude, chez 13% d'entre eux, on a constaté des taux de PSA en diminution. Il n'y a pas eu de modifications significatives des taux de testostérone. Aucun des participants n'a fait de métastases. Seul effet secondaire : 8% des participants ont eu des diarrhées faibles à modérées.

Entre la prise quotidienne de 600 mg de phénols totaux (comme équivalent acide gallique selon Folin-Ciocalteu) de l'extrait de grenade employé dans l'étude (Martin *et al.*, 2009) et d'une quantité triple il n'y a pas eu de différence significative.

Augmentation du temps de doublement de 15 à 60 mois dans une étude clinique de longue durée

Dans une étude clinique à un bras d'une durée de 33 mois (Pantuck *et al.*, 2006), la consommation quotidienne d'un verre de jus de grenade (570 mg de phénols totaux comme équivalent acide gallique selon Folin-Ciocalteu) a prolongé la période pendant laquelle le niveau de l'antigène spécifique de la prostate (PSA) a doublé de 15 à 55 mois – il a donc presque quadruplé. Malgré une prostatectomie ou une radiothérapie préalable tous les patients avaient une récidive PSA. 94% des participants avaient un score Gleason modéré de 5-7 et ne présentaient aucune métastatisation démontrée.

À la fin des 33 mois, l'étude ne comptait plus que 46 participants. Chez 83% d'entre eux, le jus de grenade a entraîné une diminution radicale du PSA et un ralentissement significatif de son temps de doublement. Parmi les répondeurs, il n'y avait pas de grandes différences dans l'efficacité. Alors qu'avant le début de l'étude, le temps de doublement moyen s'élevait à 15,6 mois (+/- 10,8 mois, moyenne 11,5 mois), il est passé pendant l'étude à 54,7 mois (+/- 102 mois moyenne 28,7 mois, $P<0,001$). Au total, 16 patients ont obtenu une diminution de la valeur PSA de 27% en moyenne, chez 4 d'entre eux, elle

était de plus de 50%. Aucun des participants n'a eu de métastases pendant les 33 mois qu'a duré l'étude. Il est très peu probable que les taux de PSA aient été masqués, car chez les hommes en bonne santé sans cancer de la prostate, le jus de grenade et l'acide ellagique n'ont eu aucun effet sur la valeur PSA. En ce qui concerne l'IGF-1, la testostérone, l'estradiol, la SHBG et l'androstènedione (précurseur de l'estradiol) de même que la déhydroépiandrostérone (DHEA = précurseur de l'androgène et de l'œstrogène), on n'a pas noté de modifications entre avant et après l'étude, dans l'étude Pantuck, chez des patients atteints de récidives du cancer de la prostate.

Pantuck interprète le manque d'effet au niveau hormonal comme indication du fait que l'efficacité des polyphénols de grenade n'est pas d'abord de nature hormonale, mais repose sur leur efficacité anti-inflammatoire et antioxydante.

Comparé aux valeurs de départ au début de l'étude, le sérum des cancéreux a réduit *ex vivo* la croissance des cellules de la prostate de la lignée LNCaP (84% de répondeurs) de 12%. Dans les cultures de cellules, le sérum a provoqué une augmentation moyenne de l'apoptose de 17, 5% (75% de répondeurs).

Chez les patients qui ont participé à l'étude 56 mois en moyenne jusque fin 2008, le temps de doublement du PSA s'est même allongé de 60 mois (5 ans) en moyenne sous prise de jus de grenade. La pente de croissance du PSA a diminué de 60% en moyenne (Pantuck *et al.*, 2009). Cette étude se poursuit dans différents centres du cancer aux USA dans le cadre d'une étude de phase 3 avec la participation du National Cancer Institute. Selon les dires du porte-parole de l'American Urological Association, le docteur Christopher Amling, l'étude suggère que le jus de grenade peut ralentir de manière efficace la progression du cancer de la prostate après l'échec d'un traitement. Les résultats et d'autres recherches en cours pourraient montrer un jour que le jus de grenade est aussi un moyen efficace de prévenir le cancer de la prostate.

Différences de réponse considérables en raison de la biodisponibilité

Autre conclusion de l'analyse à long terme : un sous-groupe de patients a profité particulièrement de la consommation de grenade. Le dépouillement plus précis de l'étude Pantuck a montré de fortes différences dans la réponse des participants : 83% avaient réagi, mais il y avait dans le temps de doublement du PSA atteint, en moyenne, une fluctuation de +/- 102 mois, ce qui montre que le jus a agi de façon remarquable chez quelques participants et modérément chez d'autres.

Les différences d'efficacité inter-individuelles très considérables (*in vivo* et *in vitro*) ne sont pas seulement imputables à une biologie différente de la tumeur, mais aussi à la biodisponibilité des polyphénols de grenade très différente selon les individus. Dans les études portant sur la biodisponibilité, on a noté des différences individuelles considéra-

bles que l'on a imputées à la composition de la flore intestinale (Cerda *et al.*, 2004). L'acide ellagique est l'élément de base des ellagitanines, qui représentent le groupe le plus important des polyphénols de grenade. La punicalagine est l'ellagitanine la plus importante qui se décompose en 3 molécules d'acide ellagique après hydrolyse complète. L'efficacité biologique du jus doit être attribuée en grande partie aux métabolites aglycones de la flore intestinale, non à l'efficacité directe des polyphénols du jus. En tant que métabolites de l'acide ellagique, les urolithines sont surement très importantes.

Effets œstrogéniques et anti-œstrogéniques

Les urolithines ont une forte affinité avec le récepteur œstrogénique α agissant de manière proliférative et peuvent avoir un effet anti-œstrogène et anti-proliférateur même en très faibles concentrations (Larrosa *et al.*, 2006). On connaît aussi l'efficacité SERM (Selective Estrogen Receptor Modulators) de l'acide ellagique (matériau de départ des urolithines) comme anti-œstrogène (Papoutsi *et al.*, 2005). Les urolithines administrées oralement à des souris s'accumulent surtout dans la prostate puis dans le côlon et le tissu intestinal. Leurs carcinomes de la prostate (xénogreffes) sont inhibés. L'acide ellagique et plus efficacement encore les urolithines inhibent *in vitro* la croissance des cellules cancéreuses de la prostate.

La biodisponibilité et la bioactivité peuvent être augmentées par la fermentation

La performance métabolique des micro-organismes fermenteurs remplace en partie un métabolisme humain déficient, en transformant les polyphénols de grenade à masse moléculaire élevée en métabolites à masse moléculaire basse, mieux résorbables. Les liaisons de sucres des polyphénols et la teneur en sucre sont décomposés. Dans les études, les polyphénols de grenade fermentés avaient un effet inhibiteur sur le cancer plus marqué que les préparations non fermentées.

Le jus de grenade fermenté s'est avéré nettement supérieur au non fermenté dans l'inhibition de la prolifération et de l'invasion des cellules du cancer de la prostate hormono-dépendant et hormono-réfractaire (Albecht *et al.*, 2004 ; Lansky *et al.*, 2005). Comparé au jus frais, les polyphénols de grenade fermentés ont freiné deux fois plus fort la croissance des cellules du cancer du sein, ont inhibé les enzymes clés que sont l'aromatase et le 17βHSD et donc la biosynthèse de l'œstrogène dans les tissus adipeux (Kim *et al.*,2002), ce qui est important tant pour le carcinome du sein que pour celui de la prostate. Un groupe de chercheurs américains (Adams *et al.*,) a confirmé que l'urolithine B , métabolite de la grenade, a en faibles doses déjà (2,35 à 4,7µmol) un effet antiprolifératif sur le cancer du sein hormono-dépendant et pourrait ainsi faire baisser le risque de cancer du sein.

Sous une forme fermentée, les polyphénols de grenade peuvent réduire efficacement la néo-angiogenèse, amener les cellules de la leucémie à la re-différenciation et induire l'apoptose (Kawaii *et al.*, 2004). Ce sont les diabétiques qui tirent le plus de profit des produits fermentés de la grenade, car le sucre du fruit est réduit de manière drastique par la fermentation.

Effets sur le cancer hormono-réfractaire

La dépendance croissante à l'androgène des carcinomes de la prostate sous blocage hormonal représente un gros problème thérapeutique et mène à l'apparition de carcinomes particulièrement agressifs. Cette dépendance à l'androgène est souvent la conséquence d'un récepteur androgénique qui a muté, est hypersensible ou surexprimé et de l'augmentation de la formation d'enzymes qui synthétisent l'androgène à partir du cholestérol dans la cellule.

La thérapie de l'ablation de la glande va de pair avec des modifications métaboliques qui peuvent entrainer le syndrome métabolique y compris des niveaux supérieurs d'insuline. Un traitement à l'insuline a montré une augmentation de l' expression des enzymes qui synthétisent l'hormone stéroïde et du substrat 2 du récepteur d'insuline dans les cellules du cancer de la prostate. En même temps, les niveaux de testostérone intracellulaires et les androgènes sécrétés ont augmenté jusqu'à atteindre un niveau comparable à celui des patients souffrant d'un cancer de la prostate. En résumé, cela signifie que des niveaux plus élevés d'insuline associés à une ablation thérapeutique de l'hormone peuvent aggraver le cancer de la prostate jusqu'au stade inguérissable du carcinome androgéno-indépendant (Lubik *et al.*, 2011).

Le syndrome métabolique est aussi lié à un risque plus élevé de cancer de la prostate *via* des taux d'insuline plus élevés, indépendamment d'une thérapie d'ablation.

Efficacité des polyphénols de grenade au stade hormono-réfractaire

- Les polyphénols de grenade font baisser l'expression du récepteur d'androgène souvent surexprimé à ce stade (Malik *et al.*, 2005 ; Hong *et al.*, 2008)
- Les polyphénols de grenade diminuent la formation des enzymes de la synthèse androgénique dans les cellules cancéreuses hormono-réfractaires (Hong *et al.*, 2008)
- Les polyphénols de grenade font baisser les niveaux de cholestérol intracellulaire (Fuhrman *et al.*, 2005) et donc le produit de départ de la biosynthèse des androgènes

- Les polyphénols de grenade fermentés inhibent la croissance tumorale des carcinomes de la prostate PC-3 réfractaires *in vivo* et ont un effet antiprolifératif et anti-invasif *in vitro* sur les cellules hormono-réfractaires PC-3 et DU145 du carcinome de la prostate (Albrecht *et al.*, 2004)

L'effet anti-inflammatoire des polyphénols de grenade (inhibition du NF-kappB, COX-2, TNF-alpha et métalloprotéases) est très important à ce stade.

Inhibition de l'expression du récepteur androgénique et de la synthèse de l'androgène

Dans une étude de l'université du Wisconsin (Malik *et al.*, 2005), un extrait de jus de grenade lyophilisé a inhibé efficacement la croissance de cellules PC 3 du carcinome de la prostate très agressives et hormono réfractaires et a entraîné leur apoptose. Dans les cellules cancéreuses androgéno-dépendantes, tant l'expression du récepteur androgénique que la production de PSA ont été réduites de 90%. Chez les souris, on a obtenu des effets anti-cancérigènes avec des quantités normales pour l'homme : le PSA a baissé nettement, les carcinomes de la prostate se sont développés nettement plus lentement que dans le groupe contrôle et le temps de survie moyen s'est prolongé de 50%.

En mai 2008, Hong et ses collaborateurs ont publié les nouvelles perspectives suivantes : dans les cellules du cancer de la prostate avec surexpression du récepteur androgénique (LNCaP-AR), les polyphénols de grenade ont inhibé l'expression du récepteur androgénique. Dans ces cellules cancéreuses et dans les cellules très agressives hormono-réfractaires DU-145, les polyphénols de grenade ont inhibé efficacement l'expression des enzymes clés de la biosynthèse de l'androgène. Les polyphénols de grenade pourraient donc être efficaces dans les carcinomes androgéno-dépendants avec récepteur androgénique surexprimé, difficiles à traiter, d'une part, et agir d'autre part dans le cas de surexpression des enzymes de la synthèse androgénique, et ainsi, représenter potentiellement une combinaison synergétique avec le blocage hormonal.

Ceci est très intéressant parce que, dans les carcinomes de la prostate avec métastases chez les hommes castrés chimiquement ou par opération, toutes les enzymes, qui sont nécessaires à la synthèse de la testostérone et de la dihydrotestostérone (DHT) issues du cholestérol, sont surexprimées. De cette manière, ces carcinomes peuvent survivre malgré des niveaux sanguins d'androgène très bas (Montgomery *et al.*, 2008).

Dans une étude clinique, les polyphénols de grenade ont montré un effet de baisse du cholestérol (Esmaillzadeh *et al.*, 2006) et ont abaissé les niveaux de cholestérol intracellulaire dans les macrophages par une diminution de l'assimilation, une augmentation de l'élimination et une biosynthèse réduite (Fuhrman *et al.*, 2005). Ainsi, le cholestérol essentiel pour la synthèse androgénique est en partie perdu pour les

cellules cancéreuses. Les statines qui entrainent une diminution significative du risque de carcinome de la prostate avancé avec métastases sont surement plus efficaces pour la diminution du cholestérol, mais ont aussi plus d'effets secondaires (Platz *et al.*, 2006).

Effets sur les voies de signalisation, l'expression des gènes et leur régulation

Aujourd'hui, on part de l'idée que la consommation régulière de fruits et légumes peut protéger du cancer et des maladies cardiovasculaires par modulation des voies de signalisation et de l'épigénome (Milner 2004 et 2006). L'efficacité particulière des polyphénols de grenade doit être attribuée à des effets synergétiques complexes : le mélange naturel de substances communique – au sens figuré – avec les cellules et les voies de communication. Des quantités relativement faibles suffisent, alors qu'il faut de fortes concentrations dans les tissus pour des effets chimiques directs.

Ainsi le groupe de recherche du Wisconsin a montré dans 6 études, comment un extrait de jus lyophilisé a inhibé le cancer *in vitro* et *in vivo* en influençant la régulation et l'expression de gènes, de même que de nombreuses voies de signalisation (Malik *et al.*, 2005 ; Afaq *et al.*, 2005 ; Afaq *et al.*, 2005 ; Syed *et al.*, 2006 ; Khan *et al.*, 2007)

- Inhibition des voies de signalisation prolifératives et cancérigènes
  - par inhibition de la phosphorylation des kinases MAP, c-met, Akt, phosphatidylinositol
  - inhibition de l'activation de mTOR
  - inhibition des marqueurs de la prolifération cellulaire (par ex. Ki-67 et PCNA)
- Inhibition des marqueurs de l'angiogenèse (par ex. CD31 et VEGF)
- Activation de l'apoptose par augmentation de l'activité des caspases et des gènes suppresseurs de la tumeur (par ex. p 53)
- Régulation du cycle cellulaire par
  - arrêt du cycle cellulaire pendant la phase G0-G1 en fonction de la dose
  - induction des gènes WAF1/21 et KIP1/p27 et grâce à cela inhibition des kinases cycline-dépendantes et activation de la régulation cellulaire et de l'apoptose
  - réduction de l'expression protéinique de la cycline D1, D2 et E ainsi que des kinases cycline-dépendantes (cdk2, cdk4, cdk6)
- inhibition initiale de la cascade inflammatoire par inhibition de l'activation du NF-kappaB

Les résultats ci-dessus proviennent essentiellement de 2 études (Khan *et al.*, 2007; Kahn *et al.*, 2007), dans lesquelles des adénomes et adénocarcinomes du poumon ont été provoqués chez des souris. L'extrait de grenade lyophilisé a réduit la masse tumorale de 62% (après 140 jours) et de 66% (après 240 jours) par rapport au groupe contrôle. On a constaté des effets semblables sur des cellules humaines du carcinome du poumon A549, sans dommages pour les cellules saines.

Comme nous l'avons montré, les polyphénols de grenade inhibent l'activité de beaucoup de protéines kinases à effet prolifératif par une inhibition de la phosphorylation. La phosphorylation est un mécanisme de contrôle très important dans la transduction de signal de la cellule. En cas de carcinome de la prostate hormono-réfractaire, la voie de signalisation PI3K/Akt est activée et conduit souvent à une phosphorylation du récepteur androgénique. Akt est une kinase sérine/thréonine qui régule la survie, la prolifération et le cycle de mort de la cellule. McCall *et al.*, (2008) ont montré que seul le récepteur androgénique phosphorylé est associé à une survie raccourcie chez les patients atteints d'un carcinome de la prostate hormono-réfractaire. Une autre étude (Mikhailova *et al.*, 2008) a montré que l'Akt, surtout sous blocage hormonal, permet la survie de la cellule cancéreuse indépendamment du récepteur androgénique. En cas de suppression d'androgène, la cellule cancéreuse stimule la phosphorylation et l'activation de l'Akt pour assurer sa survie sur cette voie de signalisation indépendante de l'androgène. Les polyphénols de grenade inhibent tant la phosphorylation de l' Akt que celle de la MAPK et ainsi leur activation. Ce pourrait être la cause de la régulation à la baisse du récepteur androgénique.

Il a été démontré dans une étude *in vivo* (Rettig *et al.*, 2008) que les polyphénols de grenade inhibent la croissance du cancer de la prostate *in vivo* et *in vitro* au moyen d'un mécanisme dépendant du NF-kappaB et retardent le passage au cancer hormono-réfractaire.

En raison de la propriété des polyphénols de grenade de réguler à la baisse l'expression du récepteur androgénique et des enzymes qui synthétisent l'androgène et d'activer chez les protéines kinases une inhibition de la phosphorylation et l'apoptose dans les cellules cancéreuses, surtout *via* une inhibition de l'activation du NF-kappaB, une combinaison avec l'ablation hormonale pourrait provoquer des effets synergétiques intéressants et ralentir la formation de résistances. Ceci doit encore faire ses preuves dans la pratique clinique.

Effets potentiels des polyphénols de grenade contre les cellules souches du cancer de la prostate

En cas de processus inflammatoires, un facteur de transcription essentiel est activé, le facteur nucléaire kappaB (NF-kappaB). L'activation du NF-kappaB combat de façon

directe et indirecte la mort cellulaire par nécrose et apoptose et est aussi un facteur déterminant dans l'immortalisation des cellules souches malignes du cancer. Les cellules souches normales endommagées se détruisent elles-mêmes par apoptose. Leurs dommages génétiques les empêchent de proliférer en clône de la cellule cancéreuse. Par contre les cellules souches avec activation du NF-kappaB sont immortelles à cause de l'inhibition de l'apoptose.

L'effet anti-inflammatoire des polyphénols de grenade se fait entre autre *via* une inhibition de l'expression de la COX-2 et du TNF-α une inhibition des métalloprotéases et une inhibition de l'activation du NF-kappaB (Afaq *et al.*, 2005; Afaq *et al.*, 2005; Syed *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2007; Shukla *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2005; Schubert *et al.*, 2002). Le NF-kappaB est un facteur de transcription central, qui régule l'expression de presque 400 gènes différents inflammatoires et partiellement cancérigènes.

C'est surtout par rapport au carcinome de la prostate hormono-réfractaire que les chercheurs s'intéressent de plus en plus au NF-kappaB. Il est très important pour la cancérogenèse du carcinome de la prostate à tous les stades et devient de plus en plus important au fur et à mesure que les options thérapeutiques diminuent (Nonomura *et al.*, 2008).

Le lien entre l'activation du NF-kappaB et les résistances à la thérapie en cas de chimio et de radiothérapie a été observé dans des études. En cas de leucémie aiguë myéloblastique (LAM), il est prouvé que seul un petit sous-groupe des cellules LAM avec un phénotype immunitaire de cellules souches est capable de transmettre la leucémie à des souris NOD/SCID. Ces cellules sont très résistantes à la chimio et à la radiothérapie. Ces cellules souches de la leucémie ont montré comme seule différence avec les cellules saines une activation constitutive du NF-kappaB (Griffin, 2001).

Birnie *et al.* (2008) ont comparé des biopsies de tissus de la prostate sains et malins. On a établi les profils d'expression de 581 gènes et validé les modèles d'expression par RT-PCR, cytométrie de flux et immunocytométrie. Une différence très marquée est la régulation à la hausse de gènes inflammatoires comme l'interleukine 6 et le NF-kappaB dans le tissu cancéreux. Un inhibiteur de NF-kappaB a montré un effet pro-aptotique ciblé sur les cellules souches du cancer, sans préjudice pour les cellules souches saines. Conclusion de l'étude : le NF-kappaB est un facteur principal du contrôle de la résistance à l'apoptose des cellules souches du cancer et donc une cible intéressante pour des interventions chimio-préventives et chimio-curatives.

D'après une étude de Lansky et Kawaii (Kawaii *et al.*, 2004), les polyphénols de jus de grenade fermentés ont conduit à la re-différenciation et à l'apoptose de cellules leucémiques HL-60. Le jus frais n'avait montré qu'un effet peu re-différenciateur. La re-différenciation est une confirmation indéniable des liaisons décrites ci-dessus selon

lesquels des leucocytes normaux ne se différencient des cellules leucémiques que par l'activation du NF-kappaB.

Les polyphénols de grenade présentent d'autres applications intéressantes et constituent d'ailleurs un point de départ très prometteur dans le traitement du cancer du sein. Une étude d'Adai *et al.* (2010) décrit l'utilisation d'un extrait de grenade standardisé sur une lignée de cellules du cancer du sein, qui montre principalement des propriétés de cellules souches. Grâce au traitement avec cet extrait, on a pu inhiber la prolifération de cellules et déclenché leur apoptose. Comme les cellules souches du cancer sont probablement la cause de l'apparition du cancer du sein, l'utilisation de polyphénols de grenade semble être un bon point de départ dans le cadre d'une prévention et d'une thérapie de ce cancer.

Synergie possible entre la chimio- et la radiothérapie et les polyphénols de grenade par inhibition de l'activation du NF-kappaB

La radiothérapie est un des piliers de la thérapie primaire et cause une activation du NF-kappaB induite par les rayons, qui peut conduire les cellules à une résistance à l'apoptose. En cas de carcinomes de la prostate au stade hormono-réfractaire, la chimiothérapie palliative avec le Docetaxel joue un rôle important. Si l'activité inflammatoire augmente alors, c'est un fort prédicteur d'effets secondaires importants, d'une survie plus courte et d'une réaction plus faible au Docetaxel (Charles *et al.*, 2006). Une inhibition de l'inflammation pourrait améliorer les résultats et diminuer les effets secondaires (Beer *et al.*, 2008). Dans des études cliniques (Olsen *et al.*, 2005), on a démontré des effets synergétiques positifs des inhibiteurs d'inflammation et des taxanes.

Toutefois, la combinaison de Docetaxel et de polyphénols de grenade plus concentrés et freinant l'inflammation n'est recommandée que sous contrôle médical. L'inactivation du Docetaxel se fait *via* l'enzyme CYP3A4 de la famille du cytochrome P450, dont l'expression est probablement réduite par les polyphénols de grenade. C'est pourquoi les polyphénols de grenade peuvent dans certaines conditions rendre le Docetaxel plus efficace chez les patients prédisposés.

Dans une étude clinique de Falsaperla *et al.*, 2005, la supplémentation en acide ellagique, monomère le plus important des polyphénols de grenade, a provoqué une réduction de la toxicité et de la neutropénie de la chimiothérapie (Vinolrelbin et estramustin) chez des patients atteints d'un cancer de la prostate hormono-réfractaire.

La synergie possible des polyphénols de grenade avec la radio- et la chimiothérapie est surement un champ de recherche important digne d'intérêt, car d'une part, les polyphénols peuvent diminuer les effets secondaires sur les cellules saines dans le sens d'une protection de la cellule, d'autre part, ils combattent la résistance à l'apoptose des cellules tumorales activées par le NF-kappaB et les rendent sensibles à la radio- et à la chimiothérapie (Jacob *et al.*, 2008b).

Exemple de synergie chimio/polyphénols de grenade fermentés

Le patient (né en 1938) souffre depuis 2000 d'un carcinome de la prostate avec métastases dans la moelle osseuse et a suivi la thérapie suivante :

- Chimio août 2005 à novembre 2005 : 25 mg/m^2 de surface corporelle de Docetaxel plus Avastin (5 mg/kg/KG).
- Diminution modérée de la valeur PSA de 349 à 235 µg/l
- Chimio juillet 2006 à février 2007: 25 mg/m^2 de surface corporelle de Docetaxel et Avastin (5 mg/kg/KG) plus 20 ml d'Élixir de Grenade (environ 500 mg de

polyphéols). Chute de la valeur PSA de 1185 à 120 µg/l. Ensuite entretien avec Estramustin/ Etoposid/ Cyclophosphamid et Élixir de Grenade.

- Arrêt de la chimio d'entretien en mai 2008. Arrêt de la prise d'Élixir à partir de juillet 2008.
- Remontée nette du PSA de 262 µg/l (juillet 2008) à 2208 µg/l (janvier 2009).
- Nouvelle session de chimio (Docetaxel plus Avastin) et prise d'Élixir (10 ml) et de GranaProsan (2 x 500 mg). Depuis février 2009, prise aussi de Formule Alcalinisante, poudre alcaline de citrate (stabilisation des os, élimination d'acide lactique de la tumeur), colostrum et enzymes. Etat général nettement meilleur et chute de la valeur PSA à 900 µg/l (28 mai 2009).
- L'état général du patient empire de façon dramatique après une lymphadénectomie avec infection, dont le patient meurt le 12 juin 2009.

Invasion des cellules tumorales

Environ 90% des cancéreux meurent des suites d'une métastatisation. Un premier stade central est la protéolyse de la matrice extracellulaire par les métalloprotéases. Un extrait de grenade lyophilisé a inhibé ces métalloprotéases (Ahmed *et al.*, 2005). Dans des études, les polyphénols de grenade fermentés et non fermentés de même que l'huile de pépins ont montré une inhibition drastique de l'invasion cellulaire tumorale (Albrecht *et al.*, 2004,; Lansky *et al.*, 2005 ; Lansky *et al.*, 2005). Ils sont efficaces sur les cellules du carcinome de la prostate hormono-sensibles (LNCaP) et hormono-réfractaires (DU-145, PC-3). *In vivo* aussi, les polyphénols de grenade fermentés ont inhibé de façon significative la croissance des cellules du carcinome de la prostate hormono-réfractaires PC-3 (Albrecht *et al.*, 2004).

Néoangiogenèse

Les polyphénols de grenade fermentés ont empêché efficacement *in vivo* la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, alors que l'extrait d'écorce de fruit s'est avéré bien moins efficace (Toi *et al.*, 2003). Dans une étude récente un extrait de grenade riche en ellagitannines a inhibé l'angiogenèse de carcinomes de la prostate *in vitro* (en cas de cellules LNCaP) et *in vivo* (Sartippour *et al.*, 2008). C'est surtout le cuivre qui soutient la néo-angiogenèse.

Chélation de métaux potentiellement cancérigènes

En fonction de leurs concentrations, des métaux comme le cuivre, le fer, le chrome, le vanadium, le cadmium, l'arsenic et le nickel peuvent stimuler la cancérogenèse en fabricant des radicaux libres et en entrainant des mutations (Valko *et al.*, 2006). Les taux sériques de cuivre semblent être plus élevés dans beaucoup de sortes de cancer et être en corrélation avec le risque de cancer (Wu *et al.*, 2004) et avec la malignité du carcinome et le pronostic. Les taux de cuivre de patients atteints d'un cancer de l'intestin et de la prostate sont nettement supérieurs à ceux des gens en bonne santé (Nayak *et al.*, 2003). Le cuivre a un effet cytotoxique, produit du stress oxydant et des réactions inflammatoires chroniques entre autre *via* le NF-kappaB et le TNF-α (Kennedy *et al.*, 1998 ; Persichini *et al.*, 2006) et stimule la formation de vaisseaux tumoraux (Lowndes *et al.*, 2005). Du point de vue thérapeutique, les chélateurs empêchent à vérifier l'assimilation de cuivre et réduisent nettement la croissance du cancer de la prostate et la néo-angiogenèse (Brewer *et al.*, 2000).

Les catéchines et les acides phénoliques, tels ceux contenus dans la grenade, forment avec le cuivre un complexe cuivre-polyphénol. Celui-ci semble en tant que pro-oxydant entrainer l'apoptose cellulaire et déployer ainsi un effet anti-cancérigène (Azmi *et al.*, 2006 ; Malik *et al.*, 2003). Comme c'est surtout dans les tissus cancéreux que les concentrations de cuivre sont élevées, ceci pourrait être une raison de l'efficacité cytotoxique sélective du complexe cuivre-polyphénol sur les cellules cancéreuses (Hadi *et al.*, 2007). Ce sont surtout les cellules du carcinome de la prostate qui présentent des concentrations de cuivre élevées et se laissent par exemple éradiquer par un complexe de cuivre et de l'antioxydant pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) (Chen *et al.*, 2005).

La punicalagine, le polyphénol de grenade quantitativement le plus important, lie entre autre le cuivre et le fer, sans se lier à l'ADN (Kulkarni *et al.*, 2007). Le monomère de punicalagine, l'acide ellagique, a des effets semblables comme chélateur du cuivre (Shimogaki *et al.*, 2000) et du nickel (Ahmed *et al.*, 1999).

Alors que d'un point de vue thérapeutique une forte concentration de cuivre dans les carcinomes peut être utile, il est conseillé en prévention de réduire l'assimilation de cuivre potentiellement cancérigène *via* l'alimentation (per ex. conduites d'eau en cuivre, amalgames dentaires à fort pourcentage de cuivre, compléments alimentaires).

Augmentation de la concentration de NO et du L-glutathion réduit (GSH)

Comme antioxydants très puissants *in vivo*, les polyphénols de grenade peuvent combattre la cancérogenèse. Le L-glutathion réduit est l'antioxydant intracellulaire le plus important et donc d'une importance vitale pour la cellule. De nombreuses maladies inflammatoires et néoplasiques vont de pair avec une réduction de la concentration de

GSH intracellulaire. Dans des études cliniques, on a montré sur des hommes que le jus de grenade augmente nettement la concentration de GSH intracellulaire, aussi bien dans les macrophages (par ex. 71% d'augmentation de GSH chez les diabétiques (Rosenblatt *et al.*, 2006) que dans les plaques d'athérome de la carotide (par ex. 250% d'augmentation du GSH (Aviram *et al.*,2004).

Le Prix Nobel Luis Ignarro qui a expliqué l'importance du monoxyde d'azote pour l'organisme humain, a démontré en 2006 que le jus de grenade augmente la biodisponibilité et la durée d'action du NO et stabilise en même temps le radical de la molécule par des mécanismes antioxydants (Ignarro *et al.*, 2006). Chez les patients atteints d'un carcinome de la prostate, le NO a augmenté de 23% en moyenne dans le sérum lors de la consommation de jus de grenade (Pantuck *et al.*, 2006).

Dans une étude clinique, le statut des antioxydants totaux dans le sang (TAS) a augmenté de 130% après consommation régulière d'un verre de jus de grenade pendant 1 an (Aviram *et al.*, 2004).

Ces effets aussi doivent davantage être attribués à l'efficacité épigénétique de la grenade comme régulateur cellulaire plutôt qu'à une efficacité antioxydante directe.

Inhibition du cytochrome P450 comme mécanisme préventif de la chimiothérapie

Une activité et une expression élevée du cytochrome (CYP) renforcent le taux de toxicité des gènes cancérigènes, augmentent ainsi le risque de tomber malade et aggravent le pronostic. Des substances végétales qui possèdent un effet inhibiteur sur le cytochrome 45O de phase I, c'est-à-dire un effet activant sur les enzymes de phase II détoxifiantes, sont importantes pour la chimio-prévention (Cavalier *et al.*, 2008 ; Jefcoate *et al.*, 2000).

L'enzyme cytochrome P450 CYP1B1 est un objectif démontré de la chimio-prévention en cas de cancer de la prostate, puisque les inhibiteurs CYP1B1 ont des effets favorables sur toutes les étapes de la cancérogenèse et contre le développement de résistances à la thérapie. Les punicalagines, pholyphénols principaux de la grenade, inhibent le CYP1A1 et pourraient avoir un effet chimio-préventif sur la muqueuse intestinale. Les urolithines sont les métabolites effectivement présents dans le sang résultant de la dégradation intestinale fermentative des ellagitannines de grenade. Ils font baisser tant l'activité du CYP1B1 que son expression (Kasimsetty *et al.*, 2009).

Dans l'expérimentation animale sur des souris, le taux de CYP-450 dans le foie des animaux participants a baissé de 43% après administration de jus de grenade pendant 4 semaines. On a observé en outre une inhibition de l'expression du CYP1A2 et CYP3A4 au niveau de l'ARNm-RNA (Faria *et al.*, 2007).

Inhibition du cytochrome et interactions potentielles avec les médicaments

Une inhibition du cytochrome peut devenir problématique en cas de médication et de dispositions génétiques appropriées, car de nombreuses enzymes cytochromes (par ex. CYP3A4) sont étroitement impliquées dans la biotransformation de médicaments, si bien que leur inhibition pourrait signifier un renforcement ou un allongement de l'efficacité de ceux-ci. On n'a pas encore suffisamment analysé dans quelle mesure les polyphénols de grenade ont des interactions cliniquement significatives avec les médicaments, mais elles semblent faibles comparées à d'autres préparations à base de fruits comme le jus de pamplemousse. Dans une analyse portant sur des microsomes du foie humain, on a mesuré l'effet inhibiteur direct du jus de grenade sur l'enzyme clé CYP3A4 à l'aide de l'activité d'hydroxylation du midazolam 1 dans des microsomes du foie humain. Comparé aux autres jus de fruits, le jus de grenade n'a montré qu'une faible efficacité inhibitrice. La puissance inhibitrice décroît comme suit : pamplemousse> mûres> raisins sauvages>grenade (Kim *et al.*, 2006). Dans l'expérimentation animale déjà citée (Faria *et al.*, 2007), l'influence sur la durée du sommeil induite par le pentobarbital n'était pas significative.

Dans l'expérimentation cellulaire, on a constaté une inhibition du CYP3A et chez les rats une modification de la cinétique pharmacologique de la carbamazépine (Hidaka *et al.*, 2005).

Par contre, dans un étude humaine on n'a pas constaté d'inhibition du CYP3A – contrairement au pamplemousse : la pharmacocinétique du midazolam est restée la même (Farkas *et al.*,2007).

Dans les publications scientifiques, on rapporte deux cas possibles mais pas indiscutables d'un renforcement de l'efficacité du warfarin (Komperda 2009 ; Jarvis *et al.*, 2010). Il est recommandé d'effectuer un dosage sous contrôle INR.

Dans les publications scientifiques, il est question d'un seul cas d'une possible interaction avec des hypolipémiants. Le patient qui prenait de l'ezetimib et du rosuvastatin souffrait probablement déjà d'une myopathie avant de prendre 200 ml de jus de grenade (CK de 659 U/L). Les statines et aussi l'ezetimib peuvent provoquer des myopathies et des rhabdomyolyses. L'observation de ce cas isolé ne permet pas de dire si les deux hypolipémiants eux-mêmes, leur interaction ou l'interaction complémentaire avec le jus de grenade sont responsables de la rhabdomyolyse du patient (Sorokin *et al.*, 2006).

Ce cas unique peu clair est encore relativisé du fait que le jus de grenade est depuis plus de 10 ans une boisson santé extrêmement populaire aux USA et est donc abondamment consommé par des personnes qui souffrent de maladies cardiovasculaires et prennent des médicaments contre l'hypercholestérolémie. C'est pourquoi l'interaction entre le jus de grenade et les médicaments si elle existe devrait être faible. Pourtant, en

cas de dispositions génétiques particulières, de combinaisons médicamenteuses, d'évolution de la maladie on ne peut pas exclure d'interactions médicamenteuses par ex. avec des anti-arythmiques, statines, bloqueurs du canal du calcium, immunosuppresseurs, coumarine (warfarin, marcumar), taxanes ou autres inhibiteurs de la protéase, mais alors dans le sens d'un renforcement de l'efficacité.

Augmentation possible de l'agoniste β du récepteur d'œstrogène antiprolifératif 3β-Adiol par inhibition du CYP-7B1

Les deux sous-types du récepteur d'œstrogène ERα et ERß remplissent différentes missions dans la prostate : ERalpha agit dans le stroma de manière proliférative sur l'épithélium de la prostate *via* la sécrétion de facteurs de croissance ; il est aussi dans les cellules basales, le récepteur d'œstrogène le plus important à fonction proliférative. ERß est responsable de l'inhibition de la prolifération et de la stimulation de la différenciation cellulaire de l'épithélium sécréteur de la prostate. ERß fait baisser l'expression du récepteur androgénique (AR) et ERα 3β-Adiol est un produit de dégradation de la dihydrotestostérone (DHT) et dans la prostate le ligand endogène le plus important de ERß. D'après celui qui a découvert le ERß, Jan-Ake Gustafsson, le 3β-Adiol compense dans la prostate *via* ERß avec son effet différenciateur, antiprolifératif, l'effet prolifératif des œstrogènes (sur ERα) et de la DHT (sur AR). Les niveaux de 3β-Adiol dans la prostate sont régulés par l'expression des deux enzymes HSD17B3 (formation) et CYP7B1 (dégradation).

In vitro, une poudre de jus de grenade lyophilisée et fermentée provoque l'inhibition de la CYP7B1 (preuve à l'aide de l'hydroxylation 7 α de la DHEA). La DHEA et le 3β-Adiol sont les substrats de la CYP7B1 et sont inactivés selon le même mécanisme. Une diminution de l'hydroxylation de la DHEA permet de conclure à une inhibition potentielle de l'inactivation de 3β-Adiol par la substance test. Comme comparaison, on a effectué des incubations complémentaires avec de l'acide ellagique. Et on a constaté une forte inhibition de l'hydroxylation 7 α de la DHEA très dépendante de la concentration. De manière surprenante, l'acide ellagique, même en fortes concentrations, n'a pas montré d'inhibition digne de ce nom alors que la poudre de grenade fermentée était efficace jusqu'à une concentration de 0,025% (masse/volume).

En ce qui concerne la testostérone, l'estradiol et la DHEA, on n'a pas constaté de modifications avant et après l'étude, dans l'étude clinique de Allan Pantuck. Toutefois, cela n'exclut pas qu'on en arrive dans la prostate à une accumulation des substances actives de la grenade (cf. Seeram *et al.*, 2006), qui mène localement à une inhibition correspondante de la CYP7B1 et à une augmentation de la concentration de 3β-Adiol, alors qu'elles ne provoquent pas de changements nets du taux sérique de 3β-Adiol et de la DHEA.

Si on obtenait également *in vivo* l'inhibition de la CYP7B1 démontrée *in vitro*, cela mènerait *via* une dégradation moindre à une augmentation de la concentration du 3β-Adiol et cela exercerait ainsi un effet protecteur anti-prolifératif dans l'épithélium de la prostate un nouveau mode d'efficacité important des polyphénols de grenade, non encore reconnu jusqu'à présent. Cet effet pourrait aussi expliquer l'influence favorable souvent observée, mais pas encore analysée dans des études, des polyphénols de grenade sur l'hyperplasie bénigne de la prostate.

Conséquences pour la pratique médicale

Un jugement définitif de l'état des études sur les polyphénols de grenade n'est actuellement pas possible, même si les résultats sont prometteurs. Mais la recommandation des polyphénols du jus de grenade dans la prévention et la thérapie alimentaire adjuvante du carcinome de la prostate se justifie. Les patients qui ne souhaitent pas de traitement curatif mais optent pour la surveillance active ont souvent la ferme volonté d'améliorer leur état de santé en changeant leur mode de vie et d'alimentation. En fonction de la biologie tumorale individuelle et de la biodisponibilité, on pourrait s'attendre à un ralentissement net de la progression du cancer et à des effets secondaires positifs sur le cœur et les vaisseaux, ce qui en cas de carcinome de la vieillesse peut signifier un gain appréciable d'années de vie.

Effets secondaires positifs sur le cœur et les vaisseaux (Jacob, 2007)

- Amélioration significative de l'irrigation du myocarde chez les patients souffrant de maladies cardiovasculaires (étude de phase II randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo).
- Réduction des dépôts artérioscléreux dans les vaisseaux et de l'hypertension (étude de phase II randomisée, contrôlée par placebo sur des patients ayant une sténose de la carotide) (Aviram *et al.*, 2004). Progression ralentie de l'épaississement de l'intima de la carotide chez des patients ayant des taux de triglycérides et de cholestérol élevés dans une étude randomisée, contrôlée par placebo portant sur 291 patients (Davidson et al ; 2009).
- Effet anti-athérogène et hypolipémiant chez les diabétiques (sans influence sur HbA1c et les sucres sanguins) dans des études cliniques (Esmaillzadeh *et al.*, 2006 ; Rosenblatt *et al.*, 2006), amélioration de l'érection chez des patients présentant un dysfonctionnement érectile (Forest *et al.* 2007).

Ces effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire et un métabolisme diabétique peuvent être d'une importance vitale surtout en cas d'ablation hormonale ou en cas de thérapie hormonale. Un nombre croissant de grandes études montrent que la suppres-

sion d'androgène augmente nettement le risque de développer des maladies cardiovasculaires et de mourir subitement d'un problème cardiaque. Ainsi, une analyse portant sur 73.196 hommes privés d'androgène avec agoniste GnRH a montré une augmentation du risque de diabète de 44%, du risque de maladies cardiovasculaire, d'infarctus et de mort subite de 16% chacun (Keting *et al.*, 2006).

Une étude portant sur 37.443 patients atteints d'un cancer de la prostate, qui a été publiée en 2010 dans le journal du National Cancer Institute (Keating *et al.*, 2010) montre ce qui suit : comparé aux patients qui n'ont pas subi de privation androgénique (thérapie hormonale), le traitement par agoniste GnRH a augmenté le risque de diabète de 28%, de maladies coronariennes de 19%, d'infarctus de 28%, de mort subite de 35% et d'apoplexie de 22%. L'orchiectomie allait de pair avec un risque 40% plus élevé de maladies coronariennes et un risque 111% plus élevé d'infarctus comparé aux patients atteints d'un cancer de la prostate, qui n'avaient pas subi de blocage hormonal ou d'ablation des testicules (orchiectomie).

Les polyphénols de grenade n'apportent pas la guérison et ne remplacent pas un traitement curatif nécessaire, mais ils peuvent compléter efficacement les thérapies conventionnelles et probablement les améliorer au point de vue efficacité et effets secondaires.

Qualité : les frelatages sont un problème des jus de grenade. On sait qu'une grande partie des boissons qui sont soi-disant composées de 100% de jus de grenade contiennent des ajouts de sucres, colorants et/ou autres jus de fruits de moindre qualité. Le goût fruité aigrelet et astringent est une caractéristique importante. Un marqueur important de l'utilisation de grenades pourries ou d'autres fruits de mauvaise qualité est le sorbitol. Même les vrais produits de la grenade ont, en fonction des procédés de fabrication et des fruits utilisés, de grosses différences de qualité et de teneur en polyphénols efficaces. Ceci ne concerne pas uniquement les jus (jus à base de concentré 897 à 4265 mg/l de polyphénols, moyenne 2288 mg/l ; jus frais 904 à 2067 mg/l, moyenne 1409 mg/l selon la méthode Folin-Ciocalteu comme équivalent catéchine ; (Fischer-Zorn & Ara, 2007)), mais aussi les extraits de grenade, où, en raison du séchage à la chaleur, les polyphénols sont présents sous une forme très polymérisée, oxydée avec une biodisponibilité douteuse et un spectre de polyphénols incomplet. Il faut donner la préférence aux procédés de séchages doux comme la lyophilisation. Jusqu'à 40% des extraits de grenade standardisés à l'acide ellagique, celui-ci est souvent ajouté artificiellement (Lansky, 2006). Dans beaucoup de gélules, les teneurs en polyphénols ne sont pas présentes ou ne sont pas comparables aux études ni à la méthode de mesure (méthode de mesure selon Folin-Ciocalteu comme équivalent acide gallique).

Quantité : la plupart des jus de grenade mis en vente n'ont pas de teneur en polyphénols standardisée. Pour rester en bonne santé, on recommande de prendre chaque jour environ 300-600 mg de polyphénols (mesuré selon Folin-Ciocalteu comme équivalent

acide gallique). En cas de carcinome de la prostate il est très important de prendre un produit de la grenade avec une teneur en polyphénols standardisée et stable et contenant le spectre naturel complet des polyphénols. Comme dans les études cliniques, on devrait en consommer au moins 570 mg par jour en sachant que les polyphénols fermentés ont une meilleure bio-activité.

Il n'est pas prouvé que des quantités supérieures donnent de meilleurs résultats. Par contre, ce n'est pas le cas dans la prévention, en cas de carcinome c'est tout à fait imaginable à cause d'effets cytostatiques plus grands. De fortes doses cytostatiques ne devraient être prises que sous contrôle médical des valeurs du foie et des reins.

La biodisponibilité des polyphénols est la meilleure quand ils sont consommés loin des repas principaux (Manach *et al.*, 2004). Les tanins se lient aux protéines et précipitent celles-ci. Cela peut avoir des répercussions négatives sur la biodisponobilité des polyphénols.

Dans l'étude Pantuck, on a constaté chez 83% des participants un ralentissement significatif de l'augmentation du PSA qui durait plus longtemps. Comme la biologie de la tumeur se modifie au cours du temps surtout sous blocage hormonal, les substances actives peuvent perdre leur efficacité. Si après quelques années, le taux de PSA remontait soudain plus vite, il faudrait prendre d'autres mesures en considération. Si on n'obtient pas d'effet avec le jus de grenade, les polyphénols de grenade fermentés, plus bio-actifs sont une deuxième option.

Les données cliniques et précliniques actuelles justifient la consommation de polyphénols de grenade dans la thérapie alimentaire adjuvante et la chimio-prévention du cancer de la prostate. Les effets protecteurs sur le système cardiovasculaire sont particulièrement positifs (Jacob, 2007). Les résultats récents de la recherche montrent des perspectives intéressantes en ce qui concerne le carcinome de la prostate hormono-réfractaire. La grenade est probablement un complément synergétique judicieux des thérapies conventionnelles.

Spectre d'efficacité des polyphénols de grenade

L'intérêt croissant pour les polyphénols est le résultat de plusieurs études *in vivo* et *in vitro*, dans lesquelles on a démontré, entre autres les effets anti-cancérigènes, antimutagènes, antioxydants, antiviraux, antiprolifératifs, antithrombotiques et hypolipidémiants.

Les polyphénols sont présents partout dans le règne végétal dans plus de 8000 liaisons. Tous les polyphénols dérivent dans leur structure de base du phénol classique, le monohydroxybenzol. Il a été démontré qu'ils possèdent en partie un caractère hormonal (substances de croissance, stéroïdes et phéromones) et protecteur contre les rayons UV, les nuisibles, les invasions de champignons et de bactéries entre autres. Ils contribuent aussi de manière déterminante à la couleur des fleurs et des fruits : les anthocyanes sont responsables d'une couleur bleue, violette, les flavonoïdes d'une coloration jaune, orangée et brune. Les polyphénols donnent aussi odeur et goût et sont présents en quantité dans les couches externes des végétaux. Dans la fabrication du jus de pommes, la plus grande partie des flavonoïdes reste dans les résidus de la pression.

La structure de base des polyphénols se compose d'un système de cycles aromatiques auquels sont liés un (phénol simple) ou plusieurs (polyphénols) groupes hydroxyles. Ils peuvent être présents comme glucosides ou esters. Ils sont solubles en milieu acide. Des produits brunâtres de polymérisation peuvent se former par oxydation. Les liaisons phénoliques forment des radicaux phenoxy stabilisés par résonance, qui réagissent avec les radicaux libres présents et les désactivent. Plus loin, on montre encore que ce sont moins les effets directs antioxydants que les effets épigénétiques indirects qui déterminent l'efficacité antioxydante et anticancérigène.

La grenade a une teneur très élevée en polyphénols. Parmi les polyphénols de la grenade, on compte les acides phénolcarboniques (acide ellagique, acide gallique, acide caféïque, acide chlorogénique) dont les dérivés polymérisés (surtout les ellagitannines) et les flavonoïdes (catéchine, quercétine, rutine, kaempherol, lutéoline et les 6 anthocyanes caractéristiques de la couleur : Delphidin-3-Glucoside, Delphidin-3,5-Diglucoside, Cyanidin-3-Glucoside, Cyanidin-3,5-Diglucoside, Pelargonidin-3-Glucoside, Pelargonidin-3,5-Diglucoside).

Spectre d'efficacité des polyphénols de grenade

- Chimio-prévention et thérapie alimentaire adjuvante du cancer avec effets anti-angiogéniques, anti-prolifératifs, pro-apoptotiques et anti-invasifs, démontrés *in vitro* et *in vivo* pour les carcinomes de la prostate, du sein, du côlon et du poumon (z. B. Kim *et al.*, 2002a; Toi *et al.*, 2003; Albrecht *et al.*, 2004; Kawaii et Lansky, 2004 ;

Seeram *et al.*, 2004 et 2005; Larrosa *et al.*, 2005; Lansky *et al.*, 2005a et b; Malik *et al.*, 2005; Afaq *et al.*, 2005a et b; Pantuck *et al.*, 2006; Syed *et al.*, 2006; Khan, 2007a et b).

- Effets anti-inflammatoires *via* l'inhibition du NF-kappaB, du TNF-α et des enzymes pro-inflammatoires comme la COX-2 et les métalloprotéases (Khan *et al.*, 2007a et b, Syed *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2005; Afaq *et al.*, 2005a et b; Schubert *et al.*, 1999 et 2002).
- Augmentation du statut total des antioxydants et protection cellulaire pour le cœur, les vaisseaux et le cerveau (z. B. Aviram *et al.*, 2000 et 2004; Loren *et al.*, 2005; Azadzoi *et al.*, 2005).
- Thérapie alimentaire adjuvante des maladies cardiovasculaires, amélioration de l'irrigation du myocarde dans le cas de maladies cardiovasculaires (étude de phase II avec des patients souffrant de maladies cardiovasculaires, Summer *et al.*, 2005).
- Réduction des dépôts artérioscléreux dans les vaisseaux et de l'hypertension (étude de phase II avec des patients atteints d'une sténose de la carotide, Aviram *et al.*,2004).
- Effets anti-athérogènes lypolipidémiants chez les diabétiques (sans influence sur HbA1c et les sucres sanguins) dans des études cliniques (Rosenblat *et al.*, 2006; Esmaillzadeh *et al.* 2006).
- Atténuation des problèmes liés à la ménopause grâce aux pépins de grenades et à leur huile (Mori-Okamato *et al.*, 2004).

Biodisponibilité et bio-activité : fermentation, qualité et transformation

Depuis des milliers d'années, des processus de fermentation sont utilisés pour rendre les aliments plus digestes, plus comestibles et pour prolonger leur durée de conservation. Cela renforce souvent aussi leurs effets bénéfiques pour la santé. Les micro-organismes comme par ex. les bactéries lactiquse et les levures ont même tant sous forme vivante que soluble, un effet d'immuno-modulation sur le système immunitaire associé à l'intestin.

On appelle paradoxe français le fait que les Français, malgré leur consommation élevée de vin, vivent environ 3 ans de plus que par ex. les Allemands ou les Etats-Uniens et ont moins de maladies cardiovasculaires. Les substances végétales du raisin sont plus efficaces dans le vin rouge que dans le jus de raisin, toutefois la teneur en alcool peut combattre l'effet positif. Le vin de grenade est de son côté nettement plus efficace pour la protection des vaisseaux que le vin rouge (Sezer *et al.*, 2007).

Au Japon, le soja dont on dit qu'il serait responsable d'un taux de cancer du sein et de la prostate nettement plus faible que chez nous est consommé en grande partie sous sa forme fermentée (miso, natto). Ainsi, les isoflavones sont présentes sous forme aglycones avec une biodisponibilité nettement meilleure.

La pré-fermentation des aliments est en général d'autant plus importante que le système digestif , l'équipement enzymatique et le microbiome intestinal sont faibles. Grâce à des processus de fermentation, les substances végétales peuvent être libérées *ex vivo* et rendues beaucoup plus biodisponibles. Car finalement, ce qui compte, ce n'est pas ce qu'on mange, mais ce qui peut être assimilé dans le sang à partir de l'intestin. Ainsi, certains micro-organismes peuvent remplacer en partie le métabolisme déficient en provoquant la dépolymérisation, la déglycosylation et la transformation enzymatique des polyphénols de grenade difficiles à résorber en substances lipophiles, capables de se diffuser et donc plus biodisponibles et bioactives.

Les tannins sont des macromolécules qui doivent être hydrolisés en composants à masse moléculaire basse avant d'être absorbés. Ce qui importe, c'est la biotransformation par la flore intestinale, pour que les métabolites plus lipophiles comme par ex. les urolithines A et B se forment et puissent pénétrer par diffusion la membrane cellulaire des colonocytes . Les flavonoïdes de la grenade aussi sont libérés par la fermentation de leurs liaisons sucre et sont plus biodisponibles comme aglycones.

On a pu montrer dans une série d'études que les polyphénols de grenade sont en effet très efficaces sous leur forme fermentée : le jus de grenade fermenté inhibe non seulement la croissance des cellules du cancer du sein positives au récepteur oestrogénique (80% d'inhibition à 50 µg/ml) mais aussi l'effet pro-cancérigène de l'œstrogène endogène car les polyphénols de grenade fermentés sont capables de bloquer les deux enzymes clés : l'aromatase et la déhydrogénase hydroxystéroïde -17-béta et de faire baisser ainsi la synthèse des œstrogènes dans les tissus adipeux. Dans des cultures de cellules de cancer du sein MCF-7 et MB-MDA-231, les polyphénols de grenade fermentés sont deux fois plus efficaces que le jus de grenade frais (Kim *et al.*, 2002a).

Dans d'autres études (Albrecht *et al.*, 2004; Lansky *et al.*, 2005a et b), le jus de grenade fermenté et non fermenté et les polyphénols fermentés de la pelure ont montré une nette inhibition de la prolifération et de l'invasion tumorales dans les cellules du carcinome de la prostate hormono-sensibles (LNCaP) et hormono-réfractaires (DU-145, PC-3). Ici aussi, l'effet des polyphénols fermentés était le plus fort. D'après une étude de Kawaii et Lansky (Kawaii et Lansky, 2004), les polyphénols fermentés du jus de grenade font que les cellules de la leucémie se redifférencient en cellules saines ou meurent par apoptose. Alors que les polyphénols fermentés du jus et de la pelure ont activé nettement la re-différenciation dans tous les essais, ce n'est pas le cas pour le jus pur. Grâce à des

polyphénols fermentés de jus de grenade, on a pu empêcher la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux (Toi *et al.*, 2003).

Il y a de très grandes différence dans la qualité et la teneur en polyphénols efficaces des jus de grenade : 897 à 4265 mg/l polyphénols, valeur moyenne 2646 mg/l, moyenne 2288 mg/l (Fischer-Zorn et Ara, 2007). Pourtant une concentration suffisante en substances actives est la condition de l'efficacité. Le jus états-unien PomWonderful, qui est utilisé dans la plupart des études, a une teneur en polyphénols d'environ 2500mg/l. Toutes les valeurs sont mesurées comme équivalent acide gallique selon la méthode Folin-Ciocalteu.

Comme nous l'avons montré, les préparations fermentées à base de grenades sont plus efficaces que les non fermentées chez les personnes ayant une dysbiose intestinale ou dont l'équipement enzymatique est déficient. Là où le jus de grenade ne fait que peu ou pas d'effet du tout, les polyphénols de grenade fermentés sont une alternative.

Le procédé de fabrication est aussi très important pour l'efficacité des substances végétales. Surtout pour les poudres, le type de séchage a des répercussions considérables sur la qualité. A cause de l'oxydation et de la polymérisation des polyphénols, les séchages à chaud donnent des substances difficilement résorbables dont l'effet bénéfique est douteux. Au contraire, lors de la lyophilisation à basse pression et à basses températures, l'eau est extraite raison pour laquelle les substances végétales se conservent mieux. La

L'effet protecteur des polyphénols de grenade en cas de syndrome métabolique, stéatose du foie, diabète, artériosclérose et maladie d'Alzheimer

Dans notre mode d'alimentation et de vie, on perd de plus en plus le sens de la mesure. C'est ce que disent les données de l'Etude nationale de Consommation II (2008) : 58,2% des participants à l'étude sont trop gros, parmi eux, 37,4% sont en surpoids et 20,8% souffrent d'adiposité. Environ 20% des Allemands ont déjà atteint le niveau suivant, déjà pathologique : le syndrome métabolique. Aux USA, sa prévalence atteint déjà 32-40%.

Au chapitre 6.2 on traitera en détails des caractéristiques essentielles du syndrome métabolique. Le syndrome métabolique provoque les maladies cardiovasculaires et le diabète, mais favorise aussi le développement de la maladie d'Alzheimer (de la Monte, 2012) et les cancers. Le syndrome métabolique est associé à une inflammation chronique, qui est caractérisée par des niveaux élevés de cytokines, des protéines de phase aiguë élevées et une activation des voies de signalisation pro-inflammatoires. Le tissu adipeux intra-hépatique et viscéral participe de façon décisive au déclenchement de cette réaction inflammatoire.

Le syndrome métabolique se développe insidieusement pendant des années sur base de suralimentation (trop de graisses, de protéines animales et d'hydrates de carbone à haut indice glycémique) et de manque d'exercice. Les signes précurseurs sont un tour de taille et un ventre qui augmentent lentement, des taux de lipides sanguins et de cholestérol LDL qui s'élèvent peu à peu, un cholestérol LDL relativement bas, un pouls au repos plus élevé et/ou une tension artérielle un peu plus élevée. Sans qu'on s'en aperçoive, les cellules du foie deviennent de plus en plus grasses. Cela entraîne une hyperinsulinémie – d'une part parce que la résistance à l'insuline se développe, d'autre part suite à une clairance de l'insuline réduite.

Le foie est l'usine biochimique centrale de notre corps et est responsable du métabolisme acido-basique, de celui de l'inflammation, de l'insuline, de l'énergie, du glucose, des protéines, de la graisse et du cholestérol. C'est surtout la combinaison du manque d'exercice et d'un apport élevé en graisse dans l'alimentation occidentale qui mène à un dysfonctionnement mitochondrial. En cas d'apport de graisse exagéré, l'augmentation de la ß-oxydation mène à un excédent de stress massif oxydant/nitrosatif, au découplage de la chaîne respiratoire et au développement d'une cytopathie mitochondriale. Dans le meilleur des cas, un excès de graisse ne fait que rendre gras, mais à la longue cela endommage surtout les mitochondries. L'augmentation de la charge oxydative entraine des dégâts oxydatifs à l'ADN mitochondrial, aux protéines et aux lipides, la consommation

d'antioxydants et finalement une cytopathie mitochondriale (Mantena *et al.*, 2009 ; Pessayre *et al.*,2004). Une oxydation accrue des acides gras n'est pas seulement une caractéristique typique des cellules cancéreuses (par ex. Liu, 2006), mais entraine aussi l'effet Warburg *via* le découplage mitochondrial, et la dégénérescence néoplastique (Samudio *et al.*, 2008).

Le développement d'un diabète sucré de type 2 non insulino-dépendant (NIDDM) mène, *via* une résistance à l'insuline, à hyperinsulinémie avec épuisement progressif de la sécrétion d'insuline. Tant dans la pathogenèse du syndrome métabolique que du NIDDM, le développement d'une résistance à l'insuline, d'une hyperinsulinémie et de la stéatose du foie non alcoolique (NAFLD) joue un rôle central. Avec une prévalence de presque 50% aux USA (Williams *et al.*, 2011), la signification de la NAFLD est très sous-estimée chez nous.

Le syndrome métabolique et la stéatohépatite non alcoolique sont les symptômes précoces de nos maladies de civilisation dans lesquelles la suralimentation, le manque d'exercice, la résistance à l'insuline et l'hyperinsulinémie ont un effet pathogène. La résistance à l'insuline fait que les cellules deviennent résistantes à l'effet de régulation du sucre dans le sang par l'insuline, mais l'hyperinsulinémie renforce encore les autres effets de l'insuline : l'insuline a un effet anabolique et favorise ainsi non seulement les perturbations du métabolisme lipidique et l'adiposité, mais aussi l'apparition du cancer. L'insuline augmente la synthèse du cholestérol, le tonus sympathique (augmentation du pouls et de la tension artérielle) et le niveau de tryptophane dans le cerveau, ce qui peut stimuler la synthèse de la sérotonine et de la mélatonine, mais ceci ne fonctionne que dans un cadre naturel et avec des pauses naturelles. Une augmentation artificielle du niveau mène à la régulation à la baisse des récepteurs si bien que la dose doit être augmentée pour obtenir le même effet. Hyppocrate formulerait la devise du mode d'alimentation moderne comme suit : « Vos drogues sont vos aliments ». Ces liens expliquent pourquoi maigrir en cas d'hyperinsulinémie est une entreprise aussi difficile que se désintoxiquer.

Le syndrome métabolique et la NAFLD s'accompagnent d'une augmentation de l'activité inflammatoire et du stress oxydant qui contribuent aux maladies secondaires typiques. Le stress oxydant et les processus inflammatoires sont très liés entre eux ; chaque inflammation provoque du stress oxydant, car les défenses immunitaires se servent des radicaux libres d'oxygène et d'azote qui sont nocifs pour les cellules. A la longue, cela entraine l'épuisement des antioxydants endogènes. Pourtant ils sont nécessaires pour la protection de la cellule et le gain d'énergie à l'intérieur des mitochondries. C'est pourquoi le développement d'un dysfonctionnement mitochondrial est une conséquence du syndrome métabolique et de la NAFLD. Les polyphénols de grenade peuvent combattre beaucoup de ces dommages collatéraux pro-oxydants et inflammatoires.

Les polyphénols protègent contre les dommages collatéraux pro-oxydants et inflammatoires

L'utilisation médicale de la grenade date d'un millier d'années. Ces 10 dernières années, quelque 300 études précliniques et cliniques ont montré que les polyphénols de grenade sont efficaces contre le stress oxydant, les maladies cardiovasculaires, la tension artérielle élevée, la démence, les réactions inflammatoires virulentes et le cancer de la prostate. Le jus, qui convient aussi aux diabétiques, a amélioré nettement l'irrigation du myocarde chez des patients souffrant de maladies coronariennes et a réduit les dépôts artérioscléreux de la carotide. Il peut atténuer les ulcères de l'estomac, les processus inflammatoires et les problèmes articulaires et probablement combattre le processus de vieillissement, freiner le développement de la maladie d'Alzheimer et réduire les problèmes d'érection durant la vieillesse. Deux études cliniques montrent un net allongement du temps de doublement du PSA chez les patients atteints d'un cancer de la prostate avec récidives PSA. D'autres études précliniques démontrent les effets bénéfiques de la grenade contre les cancers du poumon, de l'intestin et du sein.

La grenade contient surtout de grandes quantités de polyphénols antioxydants (tannines, flavonoïdes) qui lui donnent non seulement son arôme aigrelet unique, mais aussi ses nombreux effets positifs. Les polyphénols de grenade combattent le stress oxydant par renforcement des systèmes de protection endogènes. Ils influencent directement le processus inflammatoire par modulation des messagers inflammatoires. Cela se fait *via* l'inhibition des enzymes (COX-2) et des protéines (par ex. NF-kappaB et TNF-alpha) pro-inflammatoires.

Le stress oxydant dans la pathogenèse

Il a été démontré que le stress oxydant, déclenché par les radicaux libres, est un facteur non spécifique de la genèse des processus inflammatoires et néoplasiques. Les radicaux libres sont des molécules qui possèdent un ou plusieurs électrons libres non appariés. Ils déclenchent des réactions en chaine au cours desquelles des structures corporelles vitales sont endommagées. Ils se forment à cause des rayons UV du soleil, du tabagisme, des toxines, des métaux lourds et d'autres agents nocifs, mais ils sont aussi surtout des produits de dégradation inévitables qui se forment dans le corps pendant la respiration cellulaire. C'est pourquoi la meilleure recette de longue vie est de ne manger que la quantité dont notre corps a besoin, c'est-à-dire des aliments avec une forte densité de substances vitales et peu d'énergie.

Il n'est pas rare qu'on dise que les antioxydants sont des panacées. On dit qu'ils peuvent en stopper les réactions chaine, en neutralisant le radical libre – et en devenant eux-mêmes un radical. Les vitamines antioxydantes isolées comme le béta- carotène, les vitamines C et E n'ont jusqu'à présent pas vraiment répondu aux attentes dans les études. Le béta-

carotène fortement dosé a même favorisé l'apparition de cancer du poumon chez les fumeurs. La raison en est que la neutralisation des radicaux libres est un processus complexe qui exige un grand nombre d'antioxydants naturels et surtout la synergie avec les systèmes enzymatiques antioxydants endogènes (par ex. la glutathion peroxydase). Les antioxydants concentrés fortement dosés peuvent avoir un effet pro-oxydant (Lee et Lee, 2006).

En fonction de l'espèce et de la maturation, la grenade est plus ou moins riche en substances végétales secondaires antioxydantes : les anthocyanes et tannines hydrolysables comme la punicaline, punicalagine et l'ester d'acide ellagique sont les polyphénols quantitativement les plus importants. Ils représentent 87% de l'effet antioxydant *in vitro* (test TEAC) du jus (Gil *et al.*, 2000). Le jus de grenade contient bien plus de substances protectrices antioxydantes que le vin rouge, le thé vert, les jus de canneberges, de myrtilles, de noni et d'orange. Des jus de grenade états-uniens de grande qualité ont selon Gil et ses collaborateurs (Gil et a l. 2000) une puissance antioxydante 3 à 4 fois plus forte *in vitro* (20mmol/l dans le test TEAC) que le vin rouge et le thé vert (6-8 mmol/l) (Gil *et al.*, 2000). Dans l'évaluation de tous les effets antioxydants (Seram *et al.*, 2008), le jus de grenade s'est avéré comme ayant une puissance de 20% supérieure à toute autre boisson. Efficacité antioxydante : vin rouge > jus de raisin> jus de myrtille> jus de cerises noires, jus d'acai> jus de canneberge>jus d'orange, jus de pomme

Les polyphénols de grenade stimulent les systèmes de protection antioxydants endogènes

Les tests *in vitro* ont peu à voir avec l'efficacité réelle dans l'organisme. Très peu des substances antioxydantes du jus arrivent dans la cellule, puisqu'elles sont soumises à une biotransformation intense. Les concentrations sériques atteintes à partir des antioxydants végétaux provenant de la nourriture sont la plupart du temps trop faibles pour montrer des effets chimiques directs non négligeables, comme la neutralisation des radicaux libres.

Finalement, en quoi consiste la grande efficacité démontrée de ces substances végétales ? Après la consommation de 50 ml de concentré de jus de grenade (dilué dans 250 ml de jus) pendant 1 semaine, le statut antioxydant total (TAS) s'est amélioré de 9% (Aviram *et al.*,2000). Après un an de consommation de la même quantité, le TAS a augmenté de 130% (Aviram, 2004).

Les spécialistes de l'alimentation partent de l'idée que les polyphénols agissent comme biocatalyseurs et régulateurs cellulaires, en intervenant par l'intermédiaire de récepteur dans les voies de signalisation et en provoquant des modifications dans l'expression des gènes de la cellule *via* des commutateurs épigénétiques. En même temps, des gènes

antioxydants sont activés et l'activation du facteur inflammatoire NF-kappaB inhibé. Nous en parlerons plus en détails par la suite.

L'effet antioxydant des polyphénols de grenade chez l'homme est considéré comme scientifiquement sûr, même si l'effet se fait indirectement. La stimulation des systèmes enzymatiques antioxydants endogènes, surtout du système du glutathion, comme par ex. de la glutathion-S-tranférase (Moskaug *et al.*, 2005 ; Giovannini *et al.*,2006) et l'inhibition des systèmes enzymatiques pro-oxydants (par ex. cyclooxygénase, NF-kappaB) ont un rôle prédominant dans ce cas.

Un rôle central est accordé aux métabolites des composants de la grenade qui se forment lors de la métabolisation des graisses par la flore intestinale (Cerda *et al.*, 2004). Lors de la fermentation, des microorganismes probiotiques spécialement sélectionnés avec leur spectre d'enzymes naturel pré-digèrent les polyphénols de grenade et augmentent ainsi leur bioactivité et biodisponibilité. L'efficacité particulière des polyphénols de grenade a été démontrée dans des études précliniques par ex. en cas de cellules leucémiques (Kawaii et Lansky, 2004) et de cancer de la prostate (Albrecht *et al.*, 2004, Lansky *et al.*, 2005a et b) et du sein (Kim *et al.*, 2002a).

Il n'y a qu'un rapport indirect entre les mesures de la puissance antioxydante (par ex. test TEAC) en laboratoire et la puissance antioxydante réelle de la grenade dans l'organisme. Cependant, la valeur TEAC est un bon indicateur de la concentration des substances actives et de leur modification oxydative par ex. par transformation.

La puissance antioxydante de la grenade se manifeste aussi *in vivo* dans la protection antioxydante du cœur, des vaisseaux, du cerveau et du système nerveux : ainsi une étude de Loren *et al.*, (2005) montre que les bébés souris dont les mères ont été nourries au jus de grenade ont subi plus de 60% de dégâts au cerveau en moins suite à un manque d'oxygénation lors de la naissance que ceux du groupe contrôle. Les dégâts causés aux cellules par les radicaux libres après hypoxie et re-perfusion jouent un grand rôle chez les nouveau-nés de même qu'après les crises d'apoplexie et les infarctus.

Dans l'expérimentation animale, on a aussi constaté de forts effets protecteurs antioxydants sur le foie vis-à-vis de l'oxydant qu'est le nitrilotriacétate de fer (Kaur *et al.*, 2006) et sur la muqueuse gastrique vis-à-vis de l'alcool et de l'acide acétylsalicilique (Ajaikumar *et al.*, 2005). Une étude turque portant sur des rats a montré que le jus de grenade améliore nettement la qualité et la mobilité du sperme ainsi que de nombreux autres marqueurs (Malondialdéhyd, GHS, GHS-peroxydase, catalase (Türk *et al.*, 2008). Dans une étude sur des lièvres mâles qui souffraient d'un dysfonctionnement érectile dû à l'artériosclérose, les polyphénols de grenade ont eu des effets bénéfiques *via* des mécanismes antioxydants et ont rendu aux bouquins (mâles reproducteurs) une nouvelle puissance sexuelle (Azadzoi *et al.*, 2005). Dans une étude clinique en double

aveugle avec des patients qui souffraient d'un dysfonctionnement érectile, 47% des participants ont rapporté une amélioration de l'érection grâce au jus de grenade alors qu'on ne remarquait qu'une amélioration de 32% dans le groupe placebo (Forest *et al.*, 2007).

Dans une étude clinique, l'extrait de grenade a nettement facilité la récupération musculaire après des exercices intensifs chez des sportifs. Cela aussi pourrait être attribués à leurs effets antioxydants (Trombold *et al.*, 2010).

Protection anti-inflammatoire, antioxydante pour le foie

La stéatosehépatique non alcoolique (NAFLD) s'accompagne d'un dysfonctionnement mitochondrial, de résistance à l'insuline et d'hyperinsulinémie (Vial *et al.*, 2010). Environ 10-25% des intéressés développent une fibrose, une cirrhose ou pour finir un carcinome hépatocellulaire. Le plus grand facteur de risque pour la progression est la stéatohépatite ou la stéatohépatite non alcoolique (NASH). La graisse accumulée a un effet lipotoxique et induit des voies de signalisation pro-inflammatoires *via* une activation du NF-kappaB. Cette activation du NF-kappaB se retrouve uniformément dans toutes les NAFLD , elle mène finalement à l'apoptose et à la fibrose ou au carcinome hépatocellulaire (Farell *et al.*, 2012).

Le jus de grenade et ses polyphénols fermentés montrent une action anti-inflammatoire évidente. Cela est dû vraisemblablement d'une part à la modulation du métabolisme des eicosanoïdes et d'autre part à l'inhibition de l'activation du NF-kappaB qui a été démontrée dans 9 études (Khan *et al.*, 2007 -a et b, Syed *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2005; Afaq *et al.*, 2005a et b; Schubert *et al.*, 1999 et 2002).

Dans une étude (Toklu *et al.*, 2007), on a bloqué les voies biliaires de rats pour induire une fibrose. Les enzymes hépatiques AST, ALT, LDH et les cytokines ont beaucoup augmenté et ont rediminué nettement lors de la prise de polyphénols de grenade. La capacité antioxydante dans le sang et les niveaux de glutathion réduit (GSH) dans le foie ont chuté, mais se sont normalisés par la supplémentation en polyphénols de grenade. Le niveau accru de collagène du foie aussi s'est réduit sous administration de grenade pour atteindre le niveau du groupe contrôle. Ainsi, tant les dégâts oxydatifs que la structure et le fonctionnement du foie ont été rétablis.

Syndrome métabolique, inflammation et stress oxydant

Les fruits et les noix ont des effets bénéfiques sur l'adiposité, le diabète et l'hypertonie. Un facteur qui aide à réduire les dégâts consécutifs à un syndrome métabolique induit par un régime chez les rats (faiblesse cardiaque, intolérance au gluten, stéatose, activité accrue du NF-kappaB dans le cœur et le foie) et à normaliser le NF-kappaB, c'est l'acide

ellagique (Pancha *et al.*, 2012). L'acide ellagique est présent dans beaucoup de fruits, surtout dans les grenades, framboises et noix.

Les adultes en surpoids avec syndrome métabolique ont un risque élevé de dysfonctionnement et de maladies cardiovasculaires. Quelques études ont montré que les polyphénols de grenade peuvent contribuer à la protection des vaisseaux sanguins surtout dans ce groupe cible. On a donné du jus de grenade quotidiennement pendant 1 mois à de jeunes adultes avec syndrome métabolique. Après 4 heures déjà, les marqueurs de l'inflammation se sont nettement améliorés dans le sang. Après un autre mois de supplémentation, la tendance positive s'est maintenue. La fonction artérielle aussi, y compris la régulation du flux sanguin, s'est nettement améliorée (Hashemi *et al.*, 2010 ; Kelishadi *et al.*, 2011).

Le rôle central des paraoxonases dans la prévention des dégâts vasculaires et des maladies cardiovasculaires

Des niveaux élevés de HDL sont associés à un risque moindre de maladies cardiovasculaires. Cela est dû à un groupe d'enzymes : les paraoxonases, qui représentent une partie des particules HDL.

C'est surtout la paraoxonase-1 (PON1) qui est utile dans la prévention des maladies cardiaques. Les personnes présentant une activité élevée de PON1 ont un risque significativement plus faible d'avoir des maladies cardiaques que celles présentant une activité PON-1 basse (Soran *et al.*, 2009 ; Cui *et al.*, 2009 ; Regieli *et al.*, 2009). La PON-1 est une enzyme antioxydante qui empêche l'oxydation des LDL et détoxifie l'homocystéine thiolactone (HCTL) qui participent toutes deux à l'apparition de l'artériosclérose (Rosenblat et Aviram, 2009). Le LDL oxydé est principalement responsable des plaques artérioscléreuses et participe à la réaction inflammatoire qui entraîne l'obstruction des artères et favorise leur évolution mortelle. Les particules HDL qui contiennent beaucoup de paraoxonases peuvent protéger le tissu de l'oxydation fatale des LDL.

La grenade protège contre l'oxydation du cholestérol LDL et des acides gras

Les polyphénols de grenade peuvent activer l'enzyme PON-1 (Rosenblat et al, 2010 ; Fuhrman *et al.*, 2010; Gugliucci *et al.*, 2010; Shiner *et al.*, 2007) et provoquer de cette manière une augmentation des valeurs sanguines HDL de même qu'une meilleure évacuation du cholestérol. En outre L'augmentation de l'activité PON-1 augmente aussi l'effet antioxydant du cholestérol HDL (Khayeeb *et al.*, 2010). De plus, la PON-1 ralentit la maturation des macrophages qui accumulent le LDL oxydé et forment des plaques artérioscléreuses (Rosenblat *et al.* 2011). De manière intéressantes, la punicalagine, un

des polyphénols principaux de la grenade, diminue la synthèse des tryglicérides jusqu'à 40% (Rosenblatt et Aviram, 2011).

La capacité de fonctionnement des cellules endothéliales diminue en cas d'influences oxydantes et inflammatoires durables. Elles perdent leurs propriétés de régulation de la pression et du flux sanguins et se retrouvent au stade le plus précoce de l'artériosclérose (Pasqualini *et al.*, 2005). Dans une étude à court terme avec des cobayes en bonne santé, leur statut antixoydant sérique a été amélioré par la consommation de boissons riches en polyphénols (jus de grenades et de groseilles rouges) et l'accumulation du cholestérol dans leurs macrophages a diminué (Rosenblat *et al.*, 2010).

L'activité PON-1, qui représente l'activité antioxydante dans le sérum, est en étroite corrélation avec le fonctionnement endothélial. En conséquence, le fonctionnement endothélial empire quand l'activité PON-1 diminue pendant la vieillesse. Simultanément, les modifications artérioscléreuses augmentent et l'alimentation du cœur et du cerveau en oxygène et nutriments diminue (Pasqualini *et al.*, 2005; Cakatay *et al.*, 2008; Irace *et al.*, 2008; Yildiz *et al.*, 2008).

La PON-1 semble aussi avoir un rôle central dans la pathogénèse de la maladie d'Alzheimer et avoir un grand effet sur le système cholinergique et sur les dépôts ß-amyloïdes dans le cerveau (Leduc *et al.*, 2008 ; Leduc *et al.*, 2009)

La choline et la bétaïne aussi stimulent l'activité de la PON-1

La choline et la bétaïne aussi offrent un point de départ complémentaire en empêchant l'inactivation de la PON-1 due à l'inflammation. La choline et la bétaine-55 (l) 1 T11 0-55lles incn

ammatiosr

fdie et sT11 0-108 liéie in

L'abus chronique d'alcool et la consommation de grandes quantités d'acides gras oméga-3 peuvent réduire la PON-1 dans le foie par libération de radicaux et épuisement des réserves de glutathion réduit (GSH). La PON-1 empêche, comme déjà mentionné, l'oxydation des LDL et détoxifie l'homocystéine-thiolactone (HCTL). Chez les rats, à qui on a administré beaucoup d'huile de poisson, l'expression de la PON-1 dans le foie et le sérum, l'activité HCTLase et le GSH ont nettement baissé – aussi fort que dans le groupe à qui on avait administré de l'alcool. L'huile de poisson a encore renforcé l'effet hépatotoxique de l'alcool. La bétaïne a combattu ces effets et a réduit nettement l'hépatostéatose due à l'alcool et à l'huile de poisson et donc les dégâts hépatiques qui y sont liés. Cette étude attire l'attention sur un thème important et peu connu, les effets négatifs de l'huile de poisson.

La PON-1 protège les acides gras oméga-3 de l'oxydation

La PON-1 sérique protège aussi les acides gras insaturés sensibles à l'oxydation comme l'acide linolénique oméga-6 (deux fois insaturé) ou l' acide linoléique oméga-3 (ALA, trois fois insaturé), l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 5 fois insaturé) et docosahexaénoïque (DHA, 6 fois insaturé). Dans le plasma des patients avec hypercholestérolémie familiale, on a pu obtenir, par la PON-1, une nette réduction de l'oxydation de l'acide linolénique, l'acide gras quantitativement le plus important dans les particules de LDL (van Himbergen *et al.*, 2005).

La PON-1 diminue nettement le stress oxydant postprandial, comme Fuhrmann *et al.* (2006) le montrent dans une étude. Les triglycérides sériques et le stress oxydant augmentent après consommation d'acides gras et d'huiles insaturés. La consommation d'huile de poisson ou de son acide gras principal la DHA entraine une forte élévation des triglycérides sériques postprandiales et de leur oxydation. La consommation d'huile de poisson a fait baisser de 24% l'activité de la PON-1 dans le sérum et a augmenté ainsi le stress oxydant.

Les eicosanoïdes sont formés à partir des acides gras sous l'effet de plusieurs enzymes et jouent un rôle important dans les processus inflammatoires, pré-cancérigènes et cancérigènes. Les enzymes clés sont la cyclooxygénase (COX) surtout la COX-2 et la lipoxygénase (LOX). L'assimilation d'acides gras *via* la nourriture influence aussi le métabolisme des eicosanoïdes. Ainsi se forment dans le corps à partir d'acide animal (viande, produits laitiers) et d'acides gras oméga-6 végétaux (par ex. huile de chardon, huile de tournesol) surtout de l'acide arachidonique et des eicosanoïdes, qui favorisent les processus inflammatoires. Les acides gras oméga-3 (graines de chia, chanvre, huile de lin, huile de colza et poissons d'eau froide) favorisent par contre les processus anti-inflammatoires.

Cependant, il faut considérer les acides gras oméga-3 sous deux aspects. Quand les acides gras oméga-3, comme le ALA 3 fois insaturé, le EPA 5 fois insaturé et le DHA 6 fois insaturé sont oxydés, ils ont des effets négatifs. Des niveaux élevés de DHA dans le sang ont eu pour résultat une augmentation drastique du risque de cancer de la prostate dans les plus grandes études épidémiologiques comme EPIC ou Prostate Cancer Prevention Trial et un doublement du risque d'apoplexie comme effet à long terme dans l'Etude DART-2. Seuls les acides gras oméga-3 intacts, non oxydés sont vraiment bénéfiques et anti-inflammatoires. Les polyphénols de grenade combattent l'oxydation du cholestérol LDL et des acides gras oméga-3, mais interviennent aussi directement comme anti-inflammatoires dans le métabolisme des eicosanoïdes.

La grenade inhibe le métabolisme inflammatoire des acides gras

Les polyphénols de grenade fermentés inhibent non seulement l'activation du NF-kappaB et des médiateurs inflammatoires (TNF-α et protéines kinases), mais aussi les enzymes clés pro-inflammatoires du métabolisme des eicosanoïdes, la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase (LOX) (Schubert *et al.*, 1999). Beaucoup de cytokines engendrées par la COX (surtout COX-2) et la LOX comme par ex. la prostaglandine E2 favorisent, outre les processus inflammatoires, la croissance des cellules tumorales

Dans l'expérimentation animale, un extrait lyophilisé de jus de grenade a inhibé l'expression de la COX-2 (Afaq *et al.*, 2005b). Dans les cellules du carcinome du côlon, on a constaté le même effet avec du jus de grenade. Les inhibiteurs traditionnels de la COX ont inhibé la synthèse de la prostacycline et ont donc des effets secondaires cardiovasculaires indésirables. Le jus de grenade par contre favorise la synthèse de la prostacycline PGI-2 protectrice dans les cellules endothéliales de l'aorte (Polagruto *et al.*, 2003).

Un exemple pratique, dans la pathogenèse duquel tant le NF-kappaB que les eicosanoïdes jouent un rôle important, est l'arthrite rhumatoïde. Cette maladie endommage et détruit le cartilage de l'articulation par des processus inflammatoires. Ahmed et ses collaborateurs ont montré en 2005 que le jus de grenade bloque les MAP kinases et le NF-kappaB dans les chondrocytes et font baisser ainsi la synthèse des métalloprotéases qui sont essentiellement responsables de la destruction du cartilage dans les articulations. Les MAP kinases, le NF-kappaB et les métalloprotéinases matricielles jouent aussi un rôle important lors de l'invasion des cellules tumorales et de la métastatisation. Les métalloprotéinases matricielles détruisent la matrice extracellulaire (ECM) et permettent la métastatisation.

Dans le modèle animal de l'arthrite induite au collagène, les polyphénols de grenade ont atténué le déclenchement et la gravité de l'arthrite. Les souris qui avaient reçu des polyphénols de grenade présentaient nettement moins de dégénérescence des os et

après un infarctus du myocarde. Ici aussi, les polyphénols du jus de grenade pourraient avoir un effet protecteur.

Pour la santé vasculaire, le monoxyde d'azote est un messager essentiel qui est la base des médicaments efficaces les plus importants de la thérapie cardiovasculaire. LE NO a un effet anti-inflammatoire, neutralise les radicaux libres et empêche l'oxydation du cholestérol LDL. Il empêche l'agrégation des plaquettes et des cellules sanguines à l'endothélium et combat ainsi le remodelage des tissus artérioscléreux dans l'endothélium. En 2006, Luis Ignarro, prix Nobel et découvreur du NO comme messager, a publié une étude disant que le jus de grenade augmente fortement l'efficacité biologique et la durée d'efficacité du NO par des mécanismes antioxydants. Grâce à cela, le vaisseau dispose de plus de NO protecteur (Ignarro *et al.*, 2006). Il est important de mentionner que grâce à la stabilisation du NO, la réactivité non spécifique potentiellement pro-cancérigène du radical libre de monoxyde d'azote est atténuée.

Le cholestérol LDL oxydé a un effet très pro-inflammatoire et favorise les dégâts vasculaires ; de plus, il réduit l'activité de l'oxyde nitrique synthase (eNOS). Quand les cellules endothéliales sont prétraitées avec du jus de grenade, elles peuvent maintenir leur niveaux normaux d'eNOS malgré l'exposition au LDL oxydé (de Nigris *et al.*, 2006). Dans une étude, on a constaté en outre un lien évident entre le cholestérol LDL oxydé et la malignité de la tumeur des carcinomes du sein et des ovaires (Delimaris *et al.*, 2007).

Une étude aléatoire en double aveugle, contre placebo, a été publiée en 2005 par Sumner *et al.* dans le Journal of Cardiology. Chez 45 personnes souffrant de maladies cardiovasculaires avancées, qui avaient pris tous les jours pendant 3 mois 240 ml de jus de grenade (à base de concentré, environ 600 mg de polyphénols) la scintigraphie a mis en évidence une amélioration de l'irrigation du muscle cardiaque de 17% à l'effort, alors qu'elle empirait de 18% dans le groupe contrôle. Le nombre d'angines de poitrine a diminué de moitié.

En 2004, Michael Aviram a publié une étude randomisée contre placebo d'une durée de 3 ans avec 19 participants (Aviram *et al.*, 2004). Après un an de consommation de 50 ml de concentré de jus de grenade (dilué 1 :5 , environ 600 mg de polyphénols) par jour, déjà, l'épaisseur de l'intima et du média de la carotide a diminué de 35% chez les participants. Grâce à la diminution des dépôts artérioscléreux, l'irrigation de la carotide s'est améliorée de manière significative. Par contre, dans le groupe contrôle non traité, l'épaisseur de la paroi des vaisseaux a augmenté de 10%. L'activité de l'important facteur de protection des vaisseaux, la PON-1, a augmenté de 83%. Après 6 mois de consommation du jus de grenade, l'oxydation du cholestérol LDL a baissé de 90% dans le sang. En une année la pression systolique a baissé en moyenne de 12% (21 mmHg). Cet effet remarquable reposait sur une baisse de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) de 36%. Les effets bénéfiques sur la tension sanguine *via* une diminution

du LDL oxydé et une inhibition de l'ACE sont apparus aussi dans d'autres études (Mohan *et al.*, 2010 ; Aviram et Dornfeld, 2001).

Les polyphénols de grenade ont des effets cardioprotecteurs spécifiques ; dans des études animales (Mohan *et al.*, 2010), ils ont protégé le cœur contre l'effet très sympathomimétique de l'isoprénaline semblable à l'adrénaline, neutralisé le modèle EKG et réduit les marqueurs sériques des dégâts au muscle cardiaque (LDH, CK, superoxide dismutase, catalase). Très intéressant : les polyphénols de grenade n'ont ralenti le rythme cardiaque et les intervalles PR que quand le cœur avait été stressé auparavant de façon sympathomimétique. Cet effet correspond à un très bon bétabloquant qui agit de façon apaisante que quand le cœur est sur-stimulé de manière adrénergique. Dans une autre étude animale, les polyphénols de grenade ont protégé le myocarde contre l'effet cardiotoxique de la Doxorubicine, un agent chimiothérapeutique.

C'est surtout en cas de stress oxydant accru et de perturbations du métabolisme des graisses que les polyphénols de grenade aident à combattre l'artériosclérose. Dans le cadre d'une étude randomisée en double aveugle, Davidson *et al.* (2009) ont fait boire tous les jours 240 ml de jus de grenade ou un placebo à 289 adultes âgés de 45 à 74 ans présentant un ou plusieurs facteurs de risque de maladies cardiaques. Parmi les patients avec le plus de stress oxydant et les plus mauvaises valeurs lipidiques (peroxydes de lipides sériques très élevés, triglycérides (TG), rapport TG/HDL, cholestérol HDL total et apolipoprotéine B100), ceux qui prenaient de la grenade avaient une progression beaucoup plus faible de l'épaississement de la paroi artérielle de la carotide que ceux du groupe contrôle. Les études cliniques décrites montrent que les polyphénols de grenade ont surtout une forte influence sur la PON-1 et les dégâts vasculaires causés par le LDL oxydé et les perturbations du métabolisme des lipides.

Les artères avec parois épaissies et plaques sont des endroits où se fixent les caillots, ce qui est souvent la dernière étape vers l'infarctus et l'apoplexie. La formation de caillots par agrégation des plaquettes peut être inhibée par le jus de grenade. C'est surtout le jus du fruit entier qui inhibe plusieurs facteurs d'agrégation, la mobilisation du calcium, la production de thromboxane-A2 et la formation de peroxyde d'hydrogène (Matiello *et al.*, 2009).

Résumé des mécanismes anti-artérioscléreux

1. Neutralisation des radicaux libres par effet antioxydant direct et indirect
2. Baisse de la pression sanguine par inhibition de l'ACE (70% des patients : Aviram *et al.*, 2004)

3. Réduction de l'agrégation des plaquettes (11% de réduction chez l'homme après 2 semaines ; Aviram *et al.*, 2000), synthèse de la prostacycline renforcée dans les cellules endothéliales (Polagruto *et al.*, 2003)
4. Réduction du cholestérol total et du cholestérol LDL chez les diabétiques (Esmaillzadeh *et al.*, 2006)
5. 90% de réduction de l'oxydation du cholestérol LDL et augmentation de 83% de l'activité de la paraoxonase-1 en un an (Aviram *et al.* 2004)
6. Effets sur les macrophages (cellules spumeuses) : réduction marquée du stress oxydant intracellulaire, augmentation du L-glutathion intracellulaire, réduction des peroxydes intracellulaires et du cholestérol LDL oxydé (Rosenblat *et al.*, 2006 ; Rozenberg *et al.*, 2006; Fuhrmann *et al.*, 2005; Aviram *et al.*, 2004; Kaplan *et al.*, 2001)
7. Inhibition de l'activation du NF-kappaB et inhibition du TNF-α dans les cellules endothéliales (Schubert *et al.*, 2002)
8. Nette amélioration de l'activité du NO par augmentation de la synthèse et stabilisation antioxydante (de Nigris *et al.*, 2005 et 2007 ; Ignarro *et al.*, 2006)

Les polyphénols de grenade protègent les diabétiques contre les dommages indirects

En relation avec le diabète, le stress oxydant représente en même temps une cause et une conséquence importantes. Par conséquent, on constate des valeurs nettement diminuées de PON-1 et de cholestérol HDL chez des diabétiques comparés à des personnes en bonne santé, ce qui explique le taux élevé de complications cardiovasculaires (Rosenblat *et al.* 2006 ; Furhmann *et al.*, 2010 ; Fenercioglu *et al.*, 2010). En outre les diabétiques luttent continuellement contre la prise de poids et les inflammations qui rendent plus difficile le contrôle de la glycémie.

Les extraits de grenade augmentent de degré de liaison de la PON-1 aux particules HDL, soutiennent ainsi leur fonction antioxydante et combattent les processus anti-inflammatoires (Fuhrman *et al.*, 2010). Ceci fait augmenter aussi la libération d'insuline dans le pancréas et réduit la résistance à l'insuline associée à l'adiposité. Koren-Gluzer *et al.* (2011) montre que la PON-1 fait baisser l'incidence du diabète chez les souris atteintes d'un diabète induit par la streptomycine. En outre, on atteint chez ces souris des niveaux supérieurs d'insuline et le stress oxydant diminue dans les cellules β du pancréas. La PON-1 a aussi augmenté la synthèse intracellulaire de l'insuline. Le jus de grenade et la punicalagine (polyphénol principal du jus de grenade) ont aussi permis d'augmenter la libération d'insuline hors des cellules du pancréas.

Dans la grenade, les molécules naturelles de sucre sont en partie liées à des polyphénols antioxydants. Cela explique peut-être pourquoi le jus de grenade n'a pas entraîné d'augmentation de l'hémoglobine glucosée, de la glycémie, du cholestérol et des lipides dans une étude clinique contrôlée avec des diabétiques (Rosenblat *et al.*, 2006), mais a eu des répercussions positives sur les valeurs sanguines. Les diabétiques non insulino-dépendants ont bu quotidiennement 50 ml de concentré de jus de grenade pendant 3 mois (dilué 1 :5 dans 250 ml de jus, environ 600 mg polyphénols) et on a constaté des effets antioxydants et anti-artérioscléreux évidents dans le sérum et les macrophages. Au début de l'étude, la concentration des peroxydes lipidiques athérogènes chez les diabétiques était 350% plus élevée que dans le groupe contrôle composé de patients en bonne santé. Grâce à la consommation de jus de grenade, les peroxydes lipidiques ont baissé de 56% dans le sérum chez les diabétiques. Dans les macrophages, le L-glutathion protecteur nettement réduit au début de l'étude a augmenté de 141%, les peroxydes oxydés ont baissé de 71%. Les macrophages des diabétiques ont assimilé 39% de cholestérol LDL oxydé en moins. Les résultats de l'étude suggèrent que la consommation régulière, sans exagération, de jus de grenade, peut offrir une certaine protection contre les micro- et macro-angiopathies chez les diabétiques. De plus, par fermentation on peut fortement réduire la part de sucre dans le jus de grenade.

Dans une étude iranienne, 22 diabétiques présentant une hyperlipidémie et une hypercholestérolémie ont bu 30 ml de concentré de jus de grenade par jour. Après 8 semaines, on a constaté une diminution significative du cholestérol LDL et du cholestérol total. Les triglycérides et la fraction LDL sont restés inchangés (Esmaillzadeh *et al.*, 2006)

Les polyphénols de la grenade aident à perdre du poids

Les polyphénols de grenade augmentent la sensibilité à l'insuline, en faisant baisser la sécrétion de résistine. La résistine formée par les adipocytes, agit comme une cytokine et favorise la résistance à l'insuline. La résistine représente une liaison centrale entre adiposité et diabète de type 2. Dans une étude récente, les polyphénols de grenade ont fortement fait baisser les niveaux sériques de résistine et ont diminué la sécrétion et le niveau intracellulaire de résistine dans les adipocytes. Le mécanisme a lieu par une dégradation renforcée de la protéine résistine intracellulaire (Makino –Wakagi *et al.*, 2012). Les adultes adipeux ont gardé le même poids dans une étude randomisée aléatoire en double aveugle contre placebo grâce au jus de grenade, alors que dans le groupe contrôle la IMC et la masse grasse augmentaient (Gonzales-Ortiz *et al.*, 2011). La différence, en un mois seulement, était significative : alors que la masse grasse augmentait de 1,1% dans le groupe contrôle, elle a baissé de 1,4% dans le groupe qui prenait du jus de grenade.

Les polyphénols de grenade réduisent les maladies cardiovasculaires, les infections et les hospitalisations chez les patients dialysés

L'insuffisance rénale est souvent la conséquence du diabète sucré et est devenue entretemps une maladie endémique très répandue. Ces 15 dernières années, le nombre de dialysés a doublé en Allemagne. Et 8000 des 80.000 dialysés allemands attendent actuellement un organe qui leur sauverait la vie. Une étude récente de scientifiques états-uniens montre que le mode d'alimentation typiquement occidental favorise considérablement la perte de la fonction rénale avec l'âge : plus les participants consommaient une nourriture saine, c'est-à-dire plus ils mangeaient de fruits, de légumes, de blé complet et de poisson au lieu de viande rouge, plus ils conservaient une bonne fonction rénale pendant le vieillesse (Lin *et al.*, 2011).

Une inflammation systémique accrue et le stress oxydant sont des facteurs de risque dans la pathogenèse de l'artériosclérose et dans les perturbations immunologiques chez les dialysés. Chez ceux-ci, le jus de grenade peut empêcher efficacement les infections et les maladies cardiaques, comme l'a découvert une équipe de chercheurs israéliens autour de Batya Kristal du Western Galilee Hospital en Israël (Shema-Didi *et al.*, 2012). Sur une période d'un an, 101 dialysés ont reçu en dialyse, du jus de grenade soit 3 fois par semaine soit un jus placebo. Résultat : les patients du groupe de grenade ont eu plus rarement des infections et moins de dommages dus au stress oxydant. En outre, ils ont dû être hospitalisés moins souvent pour des maladies infectieuses. Alors que la probabilité, de devoir aller une fois à l'hôpital baissait de 40%, celle d'une deuxième hospitalisation diminuait même de 80%. Les séjours en hôpital pour maladies cardiovasculaires ont diminué de 36% pour le premier séjour et de 44% pour le second. Au total, on a pu constater une diminution significative dans l'effet d'amorçage des granulocytes, l'oxydation des protéines, celle des lipides et dans les marqueurs inflammatoires par la prise de jus de grenade en fonction de la durée de la prise. Le risque d'avoir des maladies cardiaques a aussi beaucoup baissé : les patients présentaient une pression sanguine plus basse, un meilleur profile lipidique et moins d'incidents cardiovasculaires. Dans la moitié du groupe placebo, les changements artérioscléreux ont augmenté. Dans le groupe de la grenade par contre, ce n'était le cas que pour 5%, chez 25% ils ont même diminué.

Après une phase d'essai d'un an, les chercheurs ont observé les patients pendant trois autres mois. On a arrêté le jus de grenade. Conséquence : les effets positifs ont complètement disparu – les patients ne présentaient plus de différences avec ceux du groupe placebo. Les scientifiques soulignent que leur étude a sa place dans une série de recherches qui ont déjà montré auparavant que le jus de grenade a des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. « Une consommation durable de jus de grenade réduit manifestement le risque de maladies chez les dialysés et augmente ainsi leur qual-

ité de vie », résume Kristal. Bien qu'on ait constaté aucun effet secondaire au cours de l'étude, les chercheurs conseillent aux dialysés de ne pas prendre le jus longtemps sans surveillance médicale des taux de potassium. La haute teneur en potassium du jus peut être dangereuse pour les dialysés si on exagère. Pour les gens dont la fonction rénale est normale, le potassium est non seulement inoffensif, mais protège les reins et les os et normalise la tension.

Les polyphénols de grenade ont un effet neuro-protecteur

D'après le rapport Barmer GEK de 2010, une femme sur deux et un homme sur trois doivent s'attendre à souffrir de démence. La démence entraine obligatoirement la dépendance – c'est à la longue pour les intéressés, leurs parents proches et notre système social, le défi le plus grand et le plus difficile qui n'arrive pas encore à éclipser la tragédie et les coûts des cancers. Une alimentation riche en graisse et en viande et le manque d'exercice ont entrainé une augmentation énorme de l'adiposité, des perturbations du métabolisme des graisses, l'hypertonie, le syndrome métabolique et la résistance à l'insuline – risques de facteurs connus de l'artériosclérose, des maladies cardiovasculaires et du diabète. Mais de plus en plus d'études démontrent aussi une augmentation nette du risque de développer la maladie d'Alzheimer à cause de ces facteurs (Martins *et al.*, 2006). On sait aussi depuis longtemps que les diabétiques développent plus de dommages vasculaires et ont un risque nettement plus élevé de démence vasculaire qui est la cause de démence la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer.

On considère comme causes pathogènes importantes de la maladie d'Alzheimer une prédisposition génétique, le stress oxydant/nitrosatif accru, des processus inflammatoires (*via* le NF-kappaB et le TNF-α), le dysfonctionnement mitochondrial et l'accumulation d'oligo-protéines mal "pliées" et agrégées, comme les peptides bêta-A amyloïdes et la protéine Tau hyperphosphorylée. La maladie d'Alzheimer semble être surtout une maladie métabolique, c'est pourquoi elle est déjà appelée diabète de type 3 (de la Monte et Wands, 2008). La résistance à l'insuline et les perturbations marquées du métabolisme de l'énergie de même que la sensibilité à l'insuline et à l'IGF dans le cerveau entrainent des symptômes pathologiques et des modifications neuro-pathologiques. La diminution de l'activité des voies de signalisation de l'insuline et de l'IGF entraine une augmentation de l'expression de la protéine β-amyloïde et de sa protéine précurseur (AβPP) de même que de leur accumulation. Des données tant cliniques qu'expérimentales démontrent le lien entre l'hyperinsulinémie chronique, les maladies cognitives et la neuro-dégénérescence (de la Monte, 2012). Les nouvelles connaissances concernant une réduction du métabolisme de l'énergie, le stress oxydant, la neuro-inflammation, la résistance à l'insuline et à l'IGF et le manque d'insuline et d'IGF dans le cerveau en cas de maladie d'Alzheimer permettent une nouvelle approche dans la prévention et les formes

de thérapie. Dans l'expérimentation animale et lors de leur utilisation pratique dans une ambulance Alzheimer d'une clinique universitaire, les polyphénols de grenade ont été très efficaces surtout à des stades précoces.

Hartman et ses collaborateurs (Hartman *et al.*, 2006) ont montré que le jus de grenade a un effet neuro-protecteur : il réduit de moitié le dépôt de ß-amyloïde dans le cerveau des souris et fait baisser nettement le risque de développer la maladie d'Alzheimer. Ces effets ne s'expliquent pas seulement par une action antioxydante directe des polyphénols et attirent l'attention sur le fait que les polyphénols de grenade influencent les voies de signalisation, les systèmes enzymatiques ainsi que l'expression et la régulation des gènes. On a montré ainsi que les polyphénols de grenade inhibent la production et l'expression du TNF-α dans des cellules microgliales du cerveau activées par l'inflammation (Jung *et al.*, 2006). L'efficacité des biologicals (bloqueurs TNF-α) sur l'évolution de la maladie d'Alzheimer vient d'être testée et confirmée dans des études cliniques.

Le facteur de transcription NF-kappaB est un médiateur central du système immunitaire, qui est impliqué dans les processus inflammatoires, l'apparition et la progression du cancer. Il est activé par ex. par le stress, le tabagisme, les radicaux libres et les inflammations et régule l'expression de presque 400 gènes différents comme les enzymes pro-inflammatoires (per ex. COX-2, 5-LOX et iNOS), les cytokines (TNF-α, IL-1, IL-6 et IL-8) et beaucoup d'autres molécules pro-inflammatoires et pro-cancérigènes. Selon des découvertes récentes, il joue aussi un rôle important dans tous les processus auto-immuns comme la sclérose en plaques ainsi que le développement de maladies neuro-dégénératives comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

Les légumes et les fruits sont connus depuis longtemps pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Les polyphénols de grenade occupent ici une place de choix en offrant une possibilité peu coûteuse, scientifiquement démontrée et dénuée de tout effet secondaire de thérapie alimentaire du syndrome métabolique, de la stéatose, du diabète sucré, de l'artériosclérose, des maladies cardiovasculaires et de la maladie d'Alzheimer. Ils peuvent en particulier prévenir et combattre les dommages secondaires oxydatifs dus à l'inflammation.