



HAL
open science

La grenade en médecine bucco-dentaire

Mathilde Picot-Dilly

► **To cite this version:**

Mathilde Picot-Dilly. La grenade en médecine bucco-dentaire. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. hal-04042784

HAL Id: hal-04042784

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042784>

Submitted on 23 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES
UNIVERSITAIRES**

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**ACADÉMIE DE NANCY-METZ
UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ D'ODONTOLOGIE DE LORRAINE**

Année 2022 N°

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement le :

Par

**Mathilde PICOT-DILLY
Née le 31/03/1995 en Moselle (57)**

La grenade en médecine bucco-dentaire

Composition du jury :

Président : Pr. Catherine STRAZIELLE

Membres : Dr. Claire JURAS
Dr. Alexandre BAUDET

Directeur de thèse : Dr. Kazutoyo YASUKAWA

« Par délibération en date du 11 décembre 1972, la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propre à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation »

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen : Docteur Kazutoyo YASUKAWA

Vice-Doyens : Dr Charlène KICHENBRAND – Dr Rémy BALTHAZARD – Dr Marin VINCENT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr ARTIS

Doyens Honoraires : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Département odontologie pédiatrique Sous-section 56-01	Mme	JAGER Stéphanie	Maître de conférences *
	M.	PREVOST Jacques	Maître de conférences
	Mme	HERNANDEZ Magali	Maître de conférences *
	M.	HAINOT Raphaël	Assistant
	Mme	HILT Léa	Assistante
	Mme	HOMBOURGER Morgane	Assistante
Département orthopédie dento-faciale Sous-section 56-01	M.	VANDE VANNET Bart	Professeur des universités *
	Mme	TRAN Mai-Linh	Assistante
Département prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale Sous-section 56-02	Mme	CLÉMENT Céline	Maître de conférences *
	M.	BAUDET Alexandre	Maître de conférences associé*
	Mme	CAIONE Mariette	Assistante
	M.	VEYNACHTER Thomas	Assistant *
Département parodontologie Sous-section 57-01	Mme	BISSON Catherine	Professeur des universités *
	M.	JOSEPH David	Maître de conférences *
	Mme	BERBE Ludivine	Assistante
	Mme	VITALI Marine	Assistante
Département chirurgie orale Sous-section 57-01	Mme	GUILLET-THIBAUT Julie	Maître de conférences *
	M.	BRAVETTI Pierre	Maître de conférences
	Mme	KICHENBRAND Charlène	Maître de conférences *
	Mme	PHULPIN Bérengère	Maître de conférences *
	M.	CLERC Sébastien	Enseignant univ. – praticien attaché*
	Mme	DE VERBIZIER Charlotte	Assistante
Département biologie orale Sous-section 57-01	Mme	EGLOFF-JURAS Claire	Maître de conférences *
	M.	MARTRETTE Jean-Marc	Professeur des universités *
	M.	LOISON-ROBERT Ludwig	Maître de conférences *
	M.	YASUKAWA Kazutoyo	Maître de conférences *
Département dentisterie restauratrice, endodontie Sous-section 58-01	M.	MORTIER Éric	Professeur des universités *
	M.	ENGELS-DEUTSCH Marc	Professeur des universités *
	M.	AMORY Christophe	Maître de conférences
	M.	BALTHAZARD Rémy	Maître de conférences *
	M.	VINCENT Marin	Maître de conférences*
	M.	GIESS Renaud	Enseignant univ. – praticien attaché*
	Mme	DAVRIL Jeanne	Assistante *
	M.	GRABER Clément	Assistant
Département prothèses Sous-section 58-01	M.	DE MARCH Pascal	Maître de conférences
	Mme	CORNE Pascale	Maître de conférences *
	M.	SCHOUVER Jacques	Maître de conférences
	Mme	VAILLANT Anne-Sophie	Maître de conférences *
	M.	HIRTZ Pierre	Enseignant universitaire
	Mme	GERBER Caroline	Assistante *
	Mme	MOUGEL Armande	Assistante
	Mme	PRINTZ Elodie	Assistante
	M.	SYDA Paul-Marie	Assistant
	Mme	WILK Sabine	Assistante
Département fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux Sous-section 58-01	Mme	STRAZIELLE Catherine	Professeur des universités *
	Mme	MOBY (STUTZMANN) Vanessa	Maître de conférences *
	M.	SALOMON Jean-Pierre	Maître de conférences
	Mme	JANTZEN-OSSOLA Caroline	Assistante associée

Souligné : responsable de département * temps plein

Mis à jour le 1^{er} mars 2022

SOMMAIRE

Sommaire

Table des illustrations

Liste des abréviations

Introduction

1. GRENADE

1.1. Présentation

1.2. Composants issus de la grenade ayant des propriétés thérapeutiques

2. REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR LES APPLICATIONS OU LES

UTILISATIONS DE LA GRENADE EN MÉDECINE BUCCO-DENTAIRE

2.1. Matériel et méthode

2.2. Résultats et discussion selon leur indications cliniques

2.3. Synthèse des résultats sous forme de tableaux récapitulatifs

Conclusion

Bibliographie

Table des matières

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Figures

- Figure 1 : Image d'une grenade sectionnée présentant les arilles compartimentés par une membrane blanchâtre.....
- Figure 2 : Arbre de sélection des articles pour la revue de littérature.....
- Figure 3 : Zones d'inhibition moyennes contre les différents micro-organismes exposés à l'extrait de grenade et exposés aux antibiotiques (témoins positifs).....
- Figure 4 : Prévalence salivaire moyenne de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* et *Veillonella* dans le groupe témoin (chlorhexidine) et expérimental (extrait de grenade), avant traitement par rinçage quotidien, après 2 semaines de traitement et après 4 semaines.....
- Figure 5 : Score du test organoleptique (ORG) et numération des CSV et autres odeurs (HAL) dans les systèmes de sédiments salivaires exposés aux extraits de grenade et de jucá en fonction des dilutions et du temps, en comparaison avec les groupes contrôles positif et négatif.....
- Figure 6 : Valeurs obtenues avec le pH-mètre dans le groupe A (chlorhexidine) et le groupe B (écorce de grenade), avant rinçage, 10min après, 30min après et 60min après
- Figure 7 : Valeurs de la numération salivaire de *Streptococcus mutans* avant rinçage, 10min après et 60min après, avec la Chlorhexidine (bleu) et l'extrait de grenade (rouge).....
- Figure 8 : Valeurs moyennes de pH salivaire obtenues avant rinçage, 10min après le rinçage et 60min après le rinçage.....
- Figure 9 : Analyse qualitative et quantitative bactérienne de la plaque sous-gingivale, avant et après 7 jours d'application des différents gels (A=Grenade ; B=Placebo ; C=*Aloe vera* ; D=Chlorhexidine).....
- Figure 1 : Moyennes de l'indice de plaque (a) et l'indice gingival (b), avant et après 7 jours d'application des différents types de gels.....

Figure 2 : Comparaison de l'acidité dans les cultures de *S. mutans* sous forme planctonique et du nombre de *S. mutans*, entre l'exposition à l'extrait de grenade selon différentes concentrations et l'exposition aux solutions témoins, en fonction du temps.....

Figure 3 : Prévalence de la formation de biofilm dans les cultures exposées à l'extrait de grenade selon trois concentrations, et celles exposées aux solutions témoins, à 6, 24 et 30 heures.....

Figure 4 : Taux d'expression de 3 types de gènes de la GTF dans les cultures non traitées (contrôle) et traitées à l'extrait de grenade et à l'extrait de *Rhus coriaria*.....

Figure 5 : Valeurs moyennes de résistance aux forces des résines nano-hybrides en fonction des différents gels testés.....

Figure 6 : Taux d'expression du facteur NF-κB au niveau pulpaire dans le groupe contrôle (A), le groupe exposé à l'hydroxyde de calcium (B) et le groupe exposé au gel de grenade (C).....

Figure 7 : Moyennes des zones d'inhibition contre *E. faecalis*, *F. nucleatum* et *S. epidermidis*, pour chaque groupe (I = grenade ; II = chlorhexidine ; III = hypochlorite de sodium ; IV = tulsi ; V = myrrhe).....

Figure 8 : Moyennes des zones d'inhibition (en mm) contre *E. faecalis* de chaque groupe.....

Figure 9 : Coupes microscopiques de l'état de surface de dentine canalaire après 30min d'irrigation au vinaigre de grenade (a), au vinaigre de cidre (b) et au vinaigre de raisin (c) (grossissement x1000).....

Figure 10 : Moyennes de microdureté de la dentine canalaire après 15min et 30min d'irrigation avec chaque solution irrigante testée.....

Figure 11 : Moyennes de pourcentage de la viabilité cellulaire avec le jus de grenade aux différentes concentrations (1%, 2,5%, 5% et 7,5%), avec le milieu HBSS à 1%, et avec l'eau du robinet, à 1, 3, 6 et 24 heures.....

Figure 12 : Application d'un copeau à base d'extrait de grenade après surfaçage.....

Figure 13 : Application du gel à base d'extrait de grenade après surfaçage.....

Figure 23 : Valeurs moyennes des paramètres cliniques obtenues dans les trois groupes après surfaçage et application de médication locale chez des patients atteints de parodontite chronique.....

Figure 14 : Valeurs moyennes des indices parodontaux mesurés dans chaque groupe au départ, à 7, 14 puis 21 jours.....

Figure 15 : Valeurs de l'analyse microbiologique des prélèvements de plaque dentaire effectués dans chacun des groupes aux différents intervalles de temps.....

Figure 16 : Résultats de l'indice gingival obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15.....

Figure 17 : Résultats de l'indice de plaque obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15.....

Figure 18 : Résultats d'indice de saignement au sondage obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15.....

Figure 19 : Moyennes de l'indice de plaque, gingival, de saignement au sondage et de profondeur de poche après 2 et après 4 semaines de traitement à la chlorhexidine et de solution à l'extrait de grenade.....

Figure 20 : Taux moyens de cytokines dans le fluide crévicaire gingival calculés dans le groupe utilisant le gel de grenade (I), de chlorhexidine (II), d'ornidazole/chlorhexidine (III) et le gel placebo (IV), au départ et après 14 jours de traitement.....

Figure 21 : Taux d'expression des gènes pour chaque cytokine et chimiokine détectée dans les cultures de cellules épithéliales exposées à l'acide ellagique à une concentration de 12,5µM et à une concentration de 50µM, en comparaison au témoin non traité.....

Figure 22 : Taux de guérison de l'infection par *Candida albicans* avec l'extrait de grenade concentré à 500µg/mL, 250µg/mL et 125µg/mL en comparaison avec la nystatine, au cours du traitement à J5, J10 et J15.....

Figure 23 : Taux d'apparition de mucosite, dysgueusie, candidose orale et xérostomie dans le groupe 1 (gel de grenade) et dans le groupe 2 (gel de miconazole) durant le traitement.....

Figure 24 : Mesures des zones d'inhibition de *Candida albicans* au contact de l'extrait de grenade, d'éthanol (témoin négatif) et de clotrimazole, en fonction de leur concentration.....

Figure 25 : Numération mycologique de *Candida* (en UFC/mL) dans le groupe G1 (eau distillée), G2 (suspension de nystatine), G3 (extrait de propolis), G4 (extrait de grenade), G5 (extrait d'*Uncaria tomentosa*), à T0, T1 et T2.....

Figure 26 : Coupes de microscope confocal à balayage laser après 48h d'incubation de l'activité du biofilm sur les surfaces de chaque matériau de revêtement testé, à gauche sur les matériaux polymérisés à chaud, à droite sur les matériaux fabriqués par CFAO.....

Figure 27 : Évaluation et comparaison dans chaque groupe, après 3h d'incubation, du nombre d'UFC (A), de l'activité métabolique fongique (B), de l'analyse microscopique de la structure du biofilm et la viabilité des cellules fongiques (C) et de la masse du biofilm (D).....

Figure 28 : Durée du soulagement de la douleur en jour, mesurée par échelle visuelle analogique, dans le groupe traité par gel de grenade (bleu), le gel Triadent (beige), et le groupe placebo (vert).....

Figure 39 : Durée en jour de la cicatrisation de l'aphte, évaluée par mesure de sa taille en mm, dans chaque groupe.....

Figure 40 : Moyennes de durée de traitement (en jour) jusqu'à réduction complète des lésions, dans les groupes utilisant une solution d'extrait de grenade selon différentes formes (alcoolique ou aqueuse) et différentes variétés (groupes a à f) et dans le groupe témoin placebo (groupe g).....

Figure 41 : Degré de douleur des lésions aphteuses, évalué selon l'échelle visuelle analogique, dans chaque groupe en fonction du temps.....

Figure 42 : Moyenne de surface des ulcères (en mm) et de temps de guérison complète (en jour) dans les groupes appliquant l'extrait de grenade à 12,5%, 25%, 50%, 75%, le groupe contrôle positif (acétonide de triamcinolone) et le groupe contrôle négatif (eau distillée) à 1,3,5,7,8,9 et 10 jours.....

Figure 43 : Coupes histologiques d'alvéoles révélant les cellules exprimant le VEGF dans le groupe contrôle avec gel placebo (a) et le groupe expérimental avec gel de grenade (b).....

Figure 44 : Coupes histologiques d'alvéoles révélant les cellules exprimant le PDGF dans le groupe contrôle (a) et le groupe expérimental (b).....

Figure 45 : Taux moyens d'expression des facteurs FGF-2 et TGF- β dans le groupe expérimental avec gel de grenade (orange) et le groupe contrôle avec gel placebo (bleu).....

Figure 46 : Évaluation de la viabilité cellulaire à plusieurs concentrations de POMx (0 à 125 μ g/mL) dans les trois lignées cellulaires cancéreuses (image A), à 12, 24 et 72heures (image B) en comparaison avec la lignée cellulaire normale, et comparaison de la morphologie cellulaire (image C).....

Figure 47 : Scores de mucosite et de dermatite obtenus dans le groupe expérimental et le groupe témoin après 6 semaines de traitement.....

Figure 48 : Activité virucide contre HSV-1 par l'extrait de grenade seul, le sulfate de zinc seul, et l'association de l'extrait de grenade avec les différents sels de zinc.....

Figure 49 : Concentration inhibitrice médiane de l'extrait de grenade, du sulfate de zinc, de leur combinaison, de la punicalagine, de l'acide ellagique et de l'aciclovir, contre HSV-1 et HSV résistant à l'aciclovir.....

Tableaux

Tableau 1 : Récapitulatif des divers composants de la grenade et de leurs propriétés thérapeutiques.....	
Tableau 1 : Étude concernant l'efficacité de la grenade et ses composants en hygiène orale.....	
Tableau 3 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en odontologie conservatrice.....	
Tableau 4 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en parodontologie..	
Tableau 5 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en dermatologie....	
Tableau 6 : Récapitulatif des propriétés des composants de la grenade et leurs domaines d'application en médecine bucco-dentaire.....	

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

ROS = espèce réactive de l'oxygène
GTF = glycosyltransférase

CMI = concentration minimale inhibitrice

CSV = composés sulfurés volatils

NF- κ B = facteur nucléaire kappa B

TNF- α = facteur de nécrose tumoral alpha

PI = indice de plaque

GI = indice gingival

PBI = indice de saignement papillaire

BOP = saignement au sondage

PPD = profondeur de poche au sondage

HBSS = solution saline équilibrée de Hank

UFC = unité formatrice de colonie

PMMA = poly méthyl méthacrylate

IL = interleukine

TEM = transition épithélio-mésenchymateuse

EPS = exopolysaccharide

VEGF = facteur de croissance endothélial vasculaire

PDGF = facteur de croissance dérivé des plaquettes

FGF-2 = facteur de croissance fibroblastique 2

TGF- β = facteur de croissance transformant β

INTRODUCTION

Originnaire du Moyen-Orient, la grenade est un fruit des plus anciens, connu depuis l'Antiquité et cultivé pour son jus savoureux, ses représentations symboliques et ses nombreuses vertus médicinales. Des propriétés antiseptiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, ou encore antiprolifératives lui sont conférées par la composition de ses grains et de sa peau en polyphénols, vitamines et lipides. Ces propriétés ont été étudiées dans le domaine de la médecine bucco-dentaire, en vue d'une potentielle utilisation thérapeutique.

Tout d'abord, ce travail décrira la composition de la grenade et ses propriétés médicinales associées. Puis, l'exposition de ses propriétés retenues dans les divers domaines de la médecine bucco-dentaire sera mise en évidence par une revue de littérature, montrant la possibilité de ses applications thérapeutiques. Un récapitulatif des propriétés de la grenade et de ses domaines d'application permettra de conclure sur son utilisation à envisager en odontologie.

1. GRENADE

1.1. PRESENTATION

La grenade est un fruit des plus anciens, dont la culture s'est répandue dans les régions méditerranéennes depuis l'Antiquité. Son nom latin d'origine *Punica granatum*, signifie « pomme granuleuse » : il désigne la pomme provenant de la ville de Carthage, alias la cité punique ou *Punica*, et qui est composée de grains. La grenade est le fruit du grenadier qui appartient à la famille des *Punicaceae*, dans le genre *Punica*, dont découle deux espèces : *Punica granatum* la grenade commune, et *Punica protopunica* une espèce installée sur l'île de Socotra au Yémen. (Kandylis et Kokkinomagoulos 2020)

La grenade est originaire du Moyen-Orient, précisément des régions situées entre l'Inde du nord et l'Iran. Sa culture nécessitant un climat sec et ensoleillé, elle se développe de l'Iran jusqu'en Egypte par les Phéniciens en -2000, puis en Afrique du nord par les colonies méditerranéennes, pour s'étendre en Espagne et dans l'Empire romain au VIIIème siècle où les marchés en sont garnis. Le fruit compte plus d'un millier de variétés différentes, celle nommée *Wonderful* étant la plus répandue sur le marché actuel : elle provient du sol américain de Californie, et se distingue par sa taille imposante, sa couleur rouge ardent et son jus savoureux, abondant et plutôt acidulé.

Le fruit s'apparente à une baie pouvant atteindre 10 centimètres de diamètre, enveloppée d'une écorce rigide, qui se distingue par un calice saillant rendant la grenade très reconnaissable et élégante. La couleur de l'écorce peut varier du jaune au violet, les teintes rouge et rose étant les plus communes. Elle renferme de nombreuses graines entourées d'arilles juteuses. Les arilles forment l'enveloppe charnue des graines, aux couleurs intenses allant du rouge profond couleur « grenat », au translucide selon les variétés. Ce sont les arilles qui constituent la partie comestible de la grenade et offrent une saveur acidulée. Une grenade peut contenir jusqu'à 1300 graines, séparées dans des loges par des cloisons membraneuses. En fonction des variétés, la taille du fruit diffère, ainsi que l'acidité, l'astringence, la maturité du fruit et la taille des grains. (Stover et Mercure 2007)



Figure 29 : Image d'une grenade sectionnée présentant les arilles compartimentés par une membrane blanchâtre

(Source : (Mohiuddin et Khizer, 2014))

La richesse historique de la grenade lui confère une symbolique forte dans de nombreuses cultures : elle représente la féminité, la prospérité, mais surtout la fertilité. Dans la mythologie grecque, la grenade est considérée comme le « fruit des morts », le moyen de subsistance des résidents du Royaume des Enfers. Leur dieu, Hadès, se lia à la fille de Zeus, la belle Perséphone, par le biais de six grains de grenade qu'elle goûta (Lansky *et al.* 2000). À l'inverse, dans la culture hébraïque, la grenade est si appréciée qu'elle est le « fruit du paradis ». Le roi d'Israël, Salomon, glorifie la grenade dans ses chants d'amour du livre le *Cantique des Cantiques* de la Bible, dont le motif agrémenté ses costumes. Chez les Perses, elle représente la puissance guerrière et l'invulnérabilité. Dans la religion musulmane, le prophète Mahomet incitait ses adeptes à se nourrir de grenade afin de dissiper l'envie et la haine. En Chine, un « concentré d'âme » serait symbolisé à travers le jus de grenade : sa couleur rouge intense l'assimile au sang de l'Homme, ce qui apporterait la longévité. Dans toutes les cultures, les graines de grenade enrobées d'une membrane, incarnent la fécondité.

En plus de sa symbolique, la grenade est connue et utilisée depuis des milliers d'années comme un remède ancestral pour ses propriétés pharmacologiques et médicinales. Dans le papyrus d'Ebers, datant de 1550 avant J-C, les égyptiens décrivent l'utilisation de la grenade pour soigner les affections intestinales par les vers solitaires. Dès lors elle est considérée comme un vermifuge contre le *Tænia*. En 400 avant J-C dans la Grèce antique, le « père de la médecine » Hippocrate, confectionnait des pansements à base d'extraits du fruit pour traiter les inflammations

dermatologiques et oculaires, mais aussi des remèdes pour faciliter la digestion. Dioscoride, médecin grec du 1er siècle, décrivait déjà les vertus médicinales de la grenade dans son célèbre ouvrage *De Materia Medica*, également en cas de douleurs au niveau de l'estomac, des oreilles et du nez. Les extraits de grenade étaient traditionnellement employés dans d'autres indications telles que les morsures de serpent, la lèpre, les hémorragies ou encore le diabète. Une préparation à base d'écorce de grenade portée à ébullition, permettait d'obtenir un pouvoir astringent et de guérir les diarrhées, les dysenteries et les affections buccales. Il était de coutume de réaliser des rinçages oraux et des lavements avec ces préparations végétales. Des lavements vaginaux étaient préconisés dans le but d'améliorer la fertilité, prévenir l'avortement et guérir les affections gynécologiques. Pour les souffrants de bronchite, un breuvage était concocté avec des boutons de fleurs de grenadiers, séchés et écrasés. À la fin du XXème siècle, les mexicains se gargarisaient déjà en utilisant les fleurs de grenadier pour apaiser les affections de la bouche et de la gorge. (Lansky *et al.* 2000; Stover et Mercure 2007)

En effet, la grenade attire de plus en plus l'attention des scientifiques pour ses bienfaits sur la santé de par sa riche concentration en polyphénols, ou composés phénoliques, qui la qualifie de « superaliment ». Depuis des années maintenant, la consommation de fruits est encouragée et revendiquée dans la prévention des risques liés à la santé. L'intérêt de ce fruit se porte sur les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiprolifératives et antihypertensives, de plus en plus étudiées.

De manière générale, les polyphénols sont les phyto-nutriments majoritaires contenus dans la grenade. Le fruit peut se décrire en deux parties distinctes :

- La peau de grenade qui est la partie externe non comestible. Elle se compose principalement de minéraux, de polysaccharides et de composés phénoliques. Le composé phénolique retrouvé en plus grande concentration est l'ellagitanin (un tanin hydrolysable) et plus précisément la punicalagine. On y retrouve également des flavonoïdes dont les anthocyanes. La peau est la partie du fruit où l'activité antioxydante est la plus forte. (Russo *et al.* 2018)

- Les arilles et les pépins de grenade qui présentent la partie interne comestible. Cette partie équivaut à 50% de la totalité du fruit, dont 40% d'arilles et 10% de pépins. Les arilles, renfermant le jus, sont très riches en eau (teneur de 85%) mais comportent aussi des sucres (10%), des acides organiques comme l'acide ascorbique, l'acide malique et l'acide citrique, des polysaccharides (dont la pectine majoritairement), des fibres, des minéraux, des vitamines, des protéines, des acides gras polyinsaturés, et des composés phénoliques. Parmi ces composés phénoliques, on retrouve les flavonoïdes dont les anthocyanes en majorité et des isoflavones dans une moindre mesure, des acides phénoliques dont l'acide ellagique, gallique et caféique, et des tanins hydrolysables spécifiquement les ellagitannins, dont la punicalagine en grande quantité. Les graines sont constituées d'huile composée majoritairement d'acide linéolique conjugué et d'acide punicique conjugué.(Sreekumar *et al.* 2014)

Selon les variétés de grenade, l'acidité varie mais le pH du fruit est communément inférieur à 4, donc acide. Ses principaux composés sucrés sont le fructose et le glucose, dont la teneur fluctue également entre 70 et 180g/L. La composition en polyphénols diffère notamment selon les variétés, mais reste dominante par rapport aux autres composants. Les ellagitannins, dont la punicalagine, et les anthocyanes sont les polyphénols prépondérants dans la grenade, qui procurent des effets bénéfiques au niveau de la santé. La punicalagine est retrouvée en plus grande concentration dans la peau lui conférant une grande capacité antioxydante, mais aussi dans les graines (Derakhshan *et al.* 2018). Les anthocyanes sont retrouvés en grande quantité dans le jus des arilles, ce qui le pigmente en couleur et offre une capacité antioxydante, anti-inflammatoire et antiproliférative.

De par sa grande propriété antioxydante, la capacité de conservation de la grenade est excellente et similaire à celle de la pomme (Stover et Mercure 2007). Sa richesse en composants antioxydants naturels s'avère intéressante dans le domaine de l'industrie alimentaire, pour pallier aux additifs chimiques utilisés dans la conservation (Derakhshan *et al.* 2018).

1.2.COMPOSANTS ISSUS DE LA GRENADE AYANT DES EFFETS THERAPEUTIQUES

1.2.1. Phytoœstrogènes

Les phytoœstrogènes servent de mécanisme de défense chez les plantes pour assurer leur survie vis-à-vis des herbivores. Une fois ingérés dans le tractus digestif des mammifères, elles sont transformées par des enzymes en composés de structures semblables aux œstrogènes. Elles ont une action œstrogénique, mais aussi antioxydante (Sreekumar *et al.* 2014). Les scientifiques s'intéressent à leur utilisation dans la prévention et le traitement des effets vasomoteurs de la ménopause, voir comme alternative thérapeutique à l'hormonothérapie substitutive. Les phytoœstrogènes pourraient notamment agir sur les maladies liées à un désordre œstrogénique comme l'ostéoporose, les cancers, et l'athérosclérose qui est source majeure de maladie cardiovasculaire (Lansky *et al.* 2000; Sreekumar *et al.* 2014).

- Les lignanes forment un groupe de phytoœstrogènes présents dans la grenade (Wu et Tian 2017). On retrouve majoritairement le lignane nommé isolaricirésinol dans la peau de grenade. Le pomegralignane, un néo-lignane, est majoritairement présent dans les arilles et la peau. Il inhibe la formation de produits finaux de glycation avancée, c'est-à-dire inhibe le vieillissement accéléré de l'organisme, et par conséquent pourraient intervenir dans certaines maladies comme l'athérosclérose, le diabète ou certains cancers (Ito *et al.* 2014 ; Wu et Tian 2017).
- La génistéine et la daidzéine sont des phytoœstrogènes isoflavoniques retrouvés dans les graines de grenade, ainsi que le coumestrol. Ils présentent donc des activités antioxydantes, participent au métabolisme hormonal, et présentent un potentiel d'inhibition sur les effets de la ménopause, dans l'athérosclérose et cancers hormono-dépendants (Lansky *et al.* 2000)

1.2.2. Minéraux

- Potassium : son rôle est de maintenir l'équilibre hydroélectrolytique de l'organisme, en association avec le sodium. Il permet le bon fonctionnement nerveux et musculaire.
- Calcium : il permet la formation et la consolidation osseuse et odontologique.
- Phosphore : il permet également la formation et la consolidation osseuse et odontologique, en liaison avec le calcium, et intervient dans le métabolisme énergétique.
- Magnésium : il a un rôle dans la formation osseuse, le métabolisme énergétique et le fonctionnement neuromusculaire.
- Sodium : son rôle est similaire à celui du potassium, il agit en association avec.
- Fer : son rôle est de transporter, de stocker l'oxygène et d'en approvisionner l'organisme.
- Zinc : il contribue au métabolisme des sucres, des lipides et des protéines, stimule les défenses immunitaires et agit comme anti-oxydant.
- Cuivre : il participe au transport de l'oxygène avec le Fer, agit comme anti-oxydant, et participe au métabolisme énergétique.
- Manganèse : il contribue au métabolisme des sucres et des lipides, participe à la synthèse collagénique, et agit comme anti-oxydant.

(Sreekumar *et al.* 2014)

1.2.3. Vitamines

La vitamine C (ou acide ascorbique), qui permet la cicatrisation par la synthèse collagénique, et les caroténoïdes, précurseurs de la vitamine A nécessaires à la vision nocturne, sont présents de manière abondante. Ils sont tous deux des agents antioxydants (Wu et Tian 2017). La vitamine B6 est également présente, et contribue au métabolisme des acides aminés. Elle permet la production d'hormone et le renouvellement de globule rouge. La vitamine B5, présente également, contribue au métabolisme des sucres, des lipides et des acides aminés, et permet la production de stéroïdes. La grenade contient des vitamines E (α -tocophérols et γ -tocophérols) à l'action antioxydante également, riches dans les pépins (Pande et Akoh 2009).

1.2.4. Sucres

Les monosaccharides les plus abondants dans la grenade sont le glucose et le fructose.

Le polysaccharide le plus présent est la pectine, qui ne présente pas particulièrement d'intérêt nutritionnel, mais peut être utilisée comme agent émulsifiant, gélifiant et colorant dans l'industrie alimentaire (Ko *et al.* 2021).

Les polysaccharides composés de glucose, galactose, mannose et arabinose, retrouvés dans le fruit, auraient un effet immunostimulant : des médiateurs de l'inflammation sont libérés par les cellules macrophagiques stimulées. (Ahmadi Gavlighi *et al.* 2018). La grenade est un fruit à indice glycémique faible.

1.2.5. Fibres

Les fibres diminuent le taux de cholestérol, régule la glycémie, et régulent le transit intestinal (Ko *et al.* 2021).

1.2.6. Hormones stéroïdiennes

L'estrone, l'estriol, l'estradiol et la testostérone sont des hormones stéroïdiennes présentes dans l'organisme humain, et retrouvées dans les graines de grenade. On retrouve aussi des précurseurs de stéroïdes nommés les triterpénoïdes dans les graines et la peau (Wu et Tian 2017).

1.2.7. Lipides

Les phytostérols sont les lipides des végétaux, présents dans la peau et les graines de grenade (Wu et Tian 2017). Les graines se composent principalement d'acides linoléiques conjugués et linoléiques (oméga-3 et oméga-6), ainsi que d'acide punique (oméga-5), un acide gras polyinsaturé conjugué propre au fruit. L'huile issue des graines en est composée à 70% (Sreekumar *et al.* 2014 ; Kandylis et Kokkinomagoulos 2020).

On attribue à l'acide punique un rôle antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreux concernant le cancer de la peau, et préventif dans le diabète et l'obésité (Ko *et al.* 2021). Des études ont montré des effets protecteurs et anti-inflammatoires de l'acide punique contre les effets néfastes de l'exposition de la peau aux radiations UV (ultra-violet) et contre la diminution de l'élasticité de la peau due au vieillissement (Ko *et al.* 2021). L'action anti-inflammatoire de l'acide punique passe par l'inhibition de l'activation des neutrophiles et de la peroxydation lipidique. L'expression des médiateurs de l'inflammation (comme les prostaglandines, les cytokines, les cyclo-oxygénases-2) est inhibée, par l'acide punique mais aussi la punicalagine et l'acide ellagique (Viuda-Martos *et al.* 2010). Une réduction de la glycémie à jeun a été observée dans plusieurs études chez des sujets diabétiques, l'acide punique participant probablement à cet effet.

On y retrouve aussi des triacylglycérols, ou triglycérides, tels que des formes isomérique de l'acide punique principalement (acide 9E, 11Z, 13E-octadécatriénoïque), de l'acide 3-O-octadec-2-énoïque, de l'acide oléique (acide cis-9-octadécénoïque), de l'acide stéarique (acide octadécanoïque), de l'acide arachidique (acide eicosanoïque) et de l'acide palmitique (acide hexadécanoïque). Ces triglycérides polyinsaturés contenus dans l'huile des graines présentent un intérêt nutritionnel pour la santé, car ils sont les précurseurs de métabolites nécessaires dans la régulation des fonctions biologiques essentielles (Fatope *et al.* 2002).

1.2.8. Acides organiques

Les principaux acides organiques sont les acides malique et citrique, notamment dans le jus. L'acide ascorbique (ou vitamine C), l'acide fumarique, l'acide oxalique,

l'acide quinique, l'acide succinique et l'acide tartrique sont également présents dans la peau et les graines. (Melgarejo *et al.* 2000; Wu et Tian 2017)

1.2.9. Alcaloïdes et indolamines

La pelletiérine est le principal alcaloïde présent dans l'écorce de la grenade, possédant des propriétés anthelminthiques contre les vers solitaires (Fatope *et al.* 2002 ; Wu et Tian 2017). On trouve le punigratane dans la peau, qui aurait un pouvoir d'inhibition sur le mécanisme d'efflux bactérien, responsable du développement des résistances bactériennes aux antibiotiques (Rafiq *et al.* 2016). Les alcaloïdes comprennent également la pseudopelletiérine, la méthylpelletiérine et l'isopelletiérine. Ils ont une activité antibactérienne (contre les salmonelles et *Vibrio cholerae*), antivirale (virus de l'herpès, du VIH et le poliovirus) et contre les amibes (Lansky *et al.* 2000).

La mélatonine, la sérotonine et tryptamine sont des indolamines également retrouvées dans la grenade mais en faible quantité (Badria 2002; Wu et Tian 2017). La mélatonine est une neurohormone nécessaire au métabolisme cérébral, dont la synthèse est permise entre autres par la sérotonine, un neurotransmetteur. La mélatonine est l'hormone qui stimule et régule le sommeil, mais qui possède aussi un pouvoir antioxydant en piégeant les radicaux libres. La sérotonine intervient également dans la régulation de l'humeur.

1.2.10. Polyphénols

Les composés phénoliques sont la principale famille de molécules bioactives complexes contenue dans la grenade, présentant des propriétés thérapeutiques intéressant les scientifiques s'avérant prometteuse dans divers domaines médicaux. Cette famille se divise en quatre groupes principaux : les tanins hydrolysables, les tanins condensés, les flavonoïdes, et les acides phénoliques.

❖ Tanins hydrolysables

Ils comprennent les ellagitannins et les gallotannins. Ils sont présents dans les diverses parties de la grenade mais prépondérants dans la peau, les ellagitannins tout

particulièrement. Les gallotanins sont quant à eux présents dans les feuilles du grenadier majoritairement. Ces tanins sont responsables d'une très forte activité antioxydante, c'est pourquoi les scientifiques se penchent sur leurs effets au niveau de l'organisme. Leur activité antioxydante repose sur leur capacité à chélater les ions métalliques et piéger les radicaux libres. Ils auraient un effet bénéfique au niveau de la santé bucco-dentaire : ils sont capables d'inhiber l' α -amylase salivaire, enzyme responsable de la dégradation de l'amidon et de l'activité cariogène (Viuda-Martos *et al.* 2010).

Les ellagitanins ont une répercussion sur le microbiote intestinale humain : ils favorisent la croissance des bactéries *Bifidobacterium breve* et *Bifidobacterium infantis*, alors qu'ils inhibent celle de *Bifidobacterium animalis lactis* (Viuda-Martos *et al.* 2010).

La punicalagine est l'ellagitanin le plus présent dans le fruit, avec ses isomères. La punicalagine (tout comme l'acide ellagique) de la grenade a donc une activité antioxydante, mais aussi antimicrobienne, anti-inflammatoire, antifongique et antivirale (Ko *et al.* 2021). Une étude a montré qu'en association avec le sulfate de zinc, la punicalagine a un effet anti-inflammatoire et virucide contre le virus *Herpes Simplex* (HSV), responsable de l'herpès labiale (Ko *et al.* 2021). Elle pourrait aussi être efficace contre le virus de la grippe H3N2. De plus, la punicalagine peut prévenir les dermatophytoses causés par les champignons, grâce à son activité antifongique (Viuda-Martos *et al.* 2010). Elle peut avoir une action préventive dans l'ostéoporose en inhibant la différenciation des ostéoclastes. Son activité anti-inflammatoire et anti-amylogénique *in vitro* contribueraient à ralentir les troubles neurodégénératifs dans la maladie d'Alzheimer, causés par le lipopolysaccharide. En association avec l'acide ellagique, elle pourrait prévenir l'obésité, le diabète de type II et les dyslipidémies, par inhibition de certaines enzymes (amines-oxydases, lipases, α -glucosidases et didpeptidyl-peptidases-4), et inhibition de gènes liés à l'adipogenèse (Kandyliis et Kokkinomagoulos 2020).

Les ellagitanins et gallotanins sont transformés en acide ellagique et acide gallique par hydrolyse au cours de la digestion : la flore intestinale métabolise ensuite l'acide ellagique en urolithine (Wu et Tian 2017; Kandyliis et Kokkinomagoulos 2020).

Les urolithines produites ont un pouvoir anti-inflammatoire, cardioprotecteur, antiprolifératif concernant les cellules cancéreuses (cancer du sein et de l'endomètre, de la prostate, du colon et de la vessie), un pouvoir préventif concernant les risques liés à l'obésité et au diabète de type II, ainsi qu'un pouvoir anti-âge en améliorant des fonctions musculaires et en inhibant la neuro-inflammation dans la maladie d'Alzheimer (Wu et Tian 2017).

❖ Acides phénoliques

Il existe deux sous familles :

- Les acides phénoliques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque : l'acide ellagique et l'acide gallique principalement.
- Les acides phénoliques dérivés de l'acide hydroxycinnamique : l'acide caféique, l'acide chlorogénique et l'acide p-coumarique.

Ces acides phénoliques sont abondants dans le jus de grenade (Viuda-Martos *et al.* 2010).

L'acide ellagique, très présent dans le jus et la peau du fruit, a un pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique et anticancéreux (Viuda-Martos *et al.* 2010; Ko *et al.* 2021). Il aurait un effet protecteur pour la peau contre l'hyperpigmentation induite par les rayonnements UVB, en induisant le blanchiment épidermique. Il permettrait aussi la prévention de l'épaississement dermique à l'origine de l'apparition de rides. La glycation cutanée induite par le vieillissement, qui se répercute sur le collagène et diminue l'élasticité de la peau, est contrée par l'acide ellagique (Viuda-Martos *et al.* 2010; Ko *et al.* 2021). L'acide ellagique offre un pouvoir cicatrisant sur les plaies et les brûlures, en favorisant la formation de collagène (Ko *et al.* 2021).

L'acide gallique, quant à lui, a une action antidiabétique : il inhibe l'activité de l' α -glucosidase au niveau intestinal. Il diminue la peroxydation lipidique chez les patients diabétique de type II par son activité antioxydante, diminue leur tension artérielle, améliore leur profil lipidique et offre une activité anti-inflammatoire (Eghbali *et al.* 2021).

L'acide caféique favorise aussi l'absorption du glucose (Viuda-Martos *et al.* 2010). Son action antimicrobienne est efficace contre *Salmonella enterica* (Viuda-Martos *et al.* 2010).

❖ Flavonoïdes

Ces composés phénoliques sont prépondérants dans les arilles et les graines de grenade, et se distinguent en deux sous-classes :

- Les flavonols : la génistéine, la daidzéine, la quercétine et la catéchine sont présentes dans les graines. La peau contient notamment la lutéoline, la quercétine et le kaempférol (Viuda-Martos *et al.* 2010 ; Wu et Tian 2017). La catéchine est connue pour son pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, mais aussi anti-hyperlipidémiant et anti-hypertensif notamment en cas de diabète de type II (Eghbali *et al.* 2021). L'action synergique de la quercétine avec l'acide ellagique inhibe davantage la croissance des cellules cancéreuses (Kandyliis et Kokkinomagoulos 2020).
- Les anthocyanidines et les anthocyanes : ils sont situés dans la peau et particulièrement dans les graines de grenade. Le delphinidine-3,5-diglucoside est l'anthocyane majeur du jus. De plus, le delphinidine-3-glucoside, le cyanidine-3-glucoside, le cyanidine-3,5-diglucoside, le pélargonidine-3,5-diglucoside et le pélargonidine-3-glucoside sont également présents dans les graines. Ces composés sont les pigments phénoliques hydrosolubles des végétaux. Ils permettent de pigmenter le fruit et son jus, en donnant cette couleur rouge grenat aux arilles et la coloration de la peau. Ils ont aussi des propriétés antioxydantes très actives : ils neutralisent les radicaux libres, inhibent leur production, et diminuent le stress oxydatif. Leur activité anti-inflammatoire empêche les voies de signalisation de l'acide arachidonique, du facteur de nécrose tumorale TNF- α et du facteur nucléaire NF-kB. Cet effet peut attribuer aux anthocyanes un rôle préventif dans les maladies cardio-vasculaires et l'obésité. Une activité antivirale mais aussi anti-proliférative sont notables : en induisant l'apoptose des cellules cancéreuses et l'activation de caspases, les anthocyanes peuvent intervenir dans l'évolution de

certains cancers. Ils inhibent la transformation maligne des cellules et leur prolifération. Les anthocyanes sont capables d'agir sur le cholestérol, l'oxydation lipidique et la formation de cellules spumeuse dans les artères, responsables de l'athérosclérose et des maladies cardio-vasculaires. Ils ont un rôle préventif antihypertensif, et antidiabétique.

(Sreekumar *et al.* 2014; Wu et Tian 2017; Kandylis et Kokkinomagoulos 2020)

Les flavonoïdes ont également un pouvoir antibactérien, et agissent sur les micro-organismes de la cavité buccale, dont ceux impliqués dans la gingivite (Viuda-Martos *et al.* 2010).

❖ Tanins condensés

Ils ont aussi une activité antibactérienne, antioxydante et antivirale. La proanthocyanidine A-1 est capable selon une étude, d'agir contre le virus de l'herpès HSV-2, en réduisant son infectivité (Howell et D'Souza, 2013).

Tableau 2 : Récapitulatif des divers composants de la grenade et de leurs propriétés thérapeutiques.

Propriétés		Molécules												
		Antioxydante	Antibactérienne	Antifongique	Antivirale	Anti-inflammatoire	Cicatrisante	Anticancéreuse	Formation osseuse	Hypoglycémiant	Hypotensive	Immunomodulatrice	Hypocholestérolémiante	Anthelminitique
Phytoœstrogènes		X						X						
Minéraux									X					
Vitamine C		X					X							
Polysaccharides												X		
Fibres										X			X	
Phytostérols (Acide punique)		X				X		X		X				
Alcaloïdes			X		X									X
Tanins hydrolysables	Ellagitanin (punicalagine)	X	X	X	X	X		X		X	X		X	
	Gallotanin	X				X					X		X	
Acides phénoliques	Acide ellagique	X	X	X		X	X	X						
	Acide gallique	X	X			X				X	X		X	
Flavonoïdes	Flavonols	X				X		X			X		X	
	Anthocyanes	X	X		X	X		X		X	X		X	
Tanins condensés	Proanthocyanidines	X	X		X									

2. Revue de littérature sur les applications ou les utilisations en médecine bucco-dentaire de la grenade

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Bases de données

Nous avons utilisé les bases de données informatiques suivantes afin de réaliser la revue de littérature :

- **Pubmed Medline ;**
- **Dentistry & Oral Sciences Sources ;**
- **Ulysse ;**

Ces bases de données ont permis d'obtenir divers articles tels que des revues de littérature, des études expérimentales et cliniques.

2.1.2. Mots-clefs

Cette étude a été réalisée à partir de mots-clefs provenant de HeTOP (*Health Terminology/ontology portal*) afin de vérifier leur appartenance à la terminologie MeSH (*Medical Subject Heading*), qui est le thésaurus de référence dans le secteur biomédical.

Les mots-clefs utilisés pour la recherche sur les bases de données informatiques sont les suivants :

- *Pomegranate*
- *Punica Granatum*
- *Punicalagin*
- *Oral health*
- *Dentistry*
- *Dental*
- *Dental caries*
- *Periodont*
- *Oral surgery*
- *Oral effects*

- *Prosthesis*

L'équation de recherche principale est la suivante : (*pomegranate* OR *punica granatum*) AND (*dentistry* OR *dental caries* OR *dental* OR *oral health* OR *periodont* OR *oral surgery* OR *prosthesis*).

2.1.3. Critères de sélection

Des critères de sélection, comprenant des critères d'inclusion et des critères d'exclusion, ont été définis afin de mener cette étude.

Les critères d'inclusion sont :

- Articles publiés entre 2011 et 2021
- Articles en anglais et en français
- Etudes sur la grenade en médecine bucco-dentaire

Les critères d'exclusion sont :

- Articles publiés avant 2011
- Articles en autre langue que l'anglais et le français
- Articles sans accès au texte intégral
- Articles dont le résumé ne présente pas l'intérêt d'étudier la grenade pour la médecine bucco-dentaire
- Articles non pertinents

2.1.4. Présentation de la sélection

En utilisant les mots-clefs définis, un total de 40 articles a été retenu sur l'utilisation et l'application de la grenade dans divers domaines de la médecine bucco-dentaire. Les critères d'inclusion et d'exclusion ont permis de retenir les articles les plus pertinents, selon la stratégie de sélection suivante :

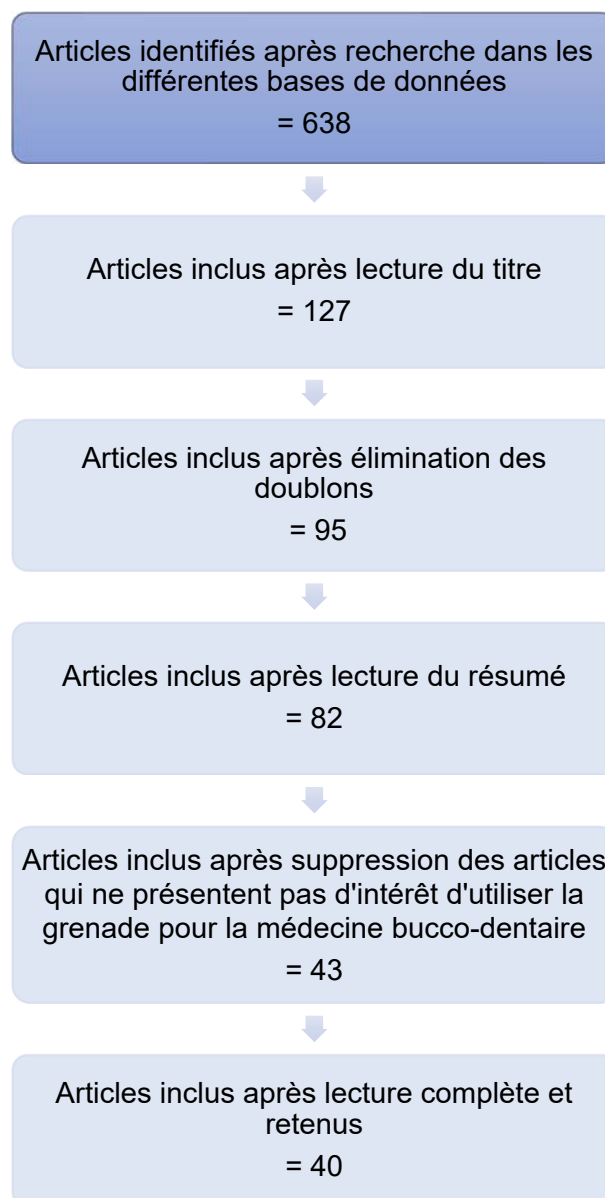


Figure 30 : Arbre de sélection des articles pour la revue de littérature

2.2. Résultats et discussion sur les applications ou les utilisations en médecine bucco-dentaire de la grenade

2.2.1. Généralités

La résistance des micro-organismes aux antibiotiques, qui ne cesse d'augmenter, ainsi que leurs effets secondaires, représentent un enjeu sanitaire de plus en plus important de nos jours. Ce sont des raisons pour lesquelles les scientifiques

s'intéressent à l'utilisation de composés naturels antimicrobiens, tels que ceux contenus dans la grenade. Les plantes aux effets thérapeutiques bénéfiques peuvent présenter une alternative très intéressante à l'emploi d'antibiotiques synthétiques.

2.2.2. Hygiène orale

❖ **Activité antibactérienne**

La propriété antibactérienne de la grenade est intéressante dans le domaine de l'hygiène bucco-dentaire et pourrait permettre une action inhibitrice contre diverses bactéries pathogènes retrouvées dans les infections de la sphère buccale.

Cette propriété est conférée aux polyphénols et particulièrement à la punicalagine, l'acide ellagique et l'acide gallique, molécules très actives. Leur structure et leur haut poids moléculaire permet d'altérer les parois des bactéries : des enzymes comme la glycosyltransférase (GTF) sont inhibées, la synthèse d'exopolysaccharides est altérée et des protéines transmembranaires entrent en interaction avec les tanins. Leur composition en protéines solubles peut entraîner la bactériolyse. Ils empêchent ainsi la co-agrégation bactérienne et la formation de biofilm. Les polyphénols inhibent également l'activité bactérienne en chélatant les ions métalliques. Cette activité présenterait une alternative à l'usage de la chlorhexidine, agent antiseptique de référence à large spectre, utilisé localement en solution de rinçage dans le cadre d'infections bucco-dentaires, en permettant de contrer ses effets néfastes sur la flore commensale orale et ses effets indésirables à long terme, comme l'altération du goût, l'apparition de colorations dentaires, la formation de tartre, l'irritation des muqueuses et les intolérances.

L'étude expérimentale *in vitro* de Abdollahzadeh *et al.* a mis en évidence l'efficacité antimicrobienne d'extrait de grenade sur certains micro-organismes pathogènes de la cavité buccale (Abdollahzadeh *et al.* 2011). La méthode de diffusion des disques sur gélose a été utilisée pour évaluer l'activité d'extraits de grenade aux trois concentrations différentes suivantes : 4mg/mL, 8mg/mL et 12mg/mL.

Table 1. Antibacterial and antifungal properties of methanolic extract of punica granatum at three different concentrations.

Microbial Strains	Antimicrobial Activity at*						Positive Control**	P.Value	F
	Conc. of 4		Conc. of 8		Conc. of 12				
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD			
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.5	0.57	11.5	0.56	12.5	0.58	30	0.000	155.66
<i>Staphylococcus epidermis</i>	11.5	0.57	13.5	0.59	13.5	0.58	29	0.000	20.00
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6.5	0.57	10.0	0.00	10.0	0	14	0.000	227.00
<i>Actinomyces viscosus</i>	6.0	0.00	6.5	0.57	6.5	0.57	25	0.168	2.00
<i>Streptococcus mutans</i>	6.0	0.00	9.5	0.57	9.5	0.57	24	0.000	98.00
<i>Streptococcus sanguinis</i>	6.5	0.57	10.0	0.00	11.5	0.58	25	0.000	172.00
<i>Streptococcus salivarius</i>	6.5	0.58	8.5	0.59	9.5	0.60	26	0.000	43.66
<i>Candida albicans</i>	6.0	0.00	6.5	0.57	6.5	0.57	40	0.168	2.00

*measured by the diameter of zone of inhibition in mm, Conc= Concentration, **Ciprofloxacin and nystatin are the positive control group.

Figure 31 : Zones d'inhibitions moyennes contre les différents micro-organismes exposés à l'extrait de grenade et exposés aux antibiotiques (témoins positifs)

(Source : Abdollahzadeh *et al.*, 2011))

Selon la figure ci-dessus, l'activité antimicrobienne s'est révélée efficace pour une concentration de 8mg/mL et 12mg/mL sur *Streptococcus sanguinis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans* et *Streptococcus salivarius*, des espèces responsables de la gingivite chronique, alors qu'elle l'est également pour une concentration de 4mg/mL sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. En revanche, aucune efficacité n'a été constatée sur *Actinomyces viscosus* et le champignon *Candida albicans* aux concentrations testées. Cette inefficacité pourrait être liée à leur différence de structure de paroi cellulaire par rapport aux autres agents pathogènes selon Abdollahzadeh *et al.*

Dans leur article de revue, Howell et D'Souza ont exposé l'activité antimicrobienne de la grenade en synthétisant les résultats de diverses études expérimentales (Howell et D'Souza, 2013). L'action antibactérienne est principalement attribuée aux extraits méthanoliques de la peau de grenade. Elle se montre efficace *in vitro* contre *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*, *Streptococcus salivarius*, *mutans* et *sanguinis*, et contre *Lactobacillus acidophilus* comme l'a prouvé l'étude vue précédemment, mais aussi contre les espèces en cause dans la parodontite de l'adulte et juvénile, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mitis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, et l'espèce *Proteus* selon d'autres auteurs (Abdollahzadeh *et al.* 2011).

Jacob *et al.* ont également établi que l'extrait de grenade utilisé en bain de bouche était efficace pour diminuer le taux de micro-organismes salivaires en menant leur essai clinique sur des individus présentant un haut risque carieux (Jacob *et al.* 2021). L'analyse des échantillons de salive prélevée avant traitement, après deux semaines de traitement et après quatre semaines, n'a pas mis en évidence de différence significative quant à la quantité salivaire de *S. mutans*, de *Lactobacillus* et de *Veillonella* entre le groupe utilisant la solution de grenade et celui utilisant la chlorhexidine en rinçage, à raison d'une fois par jour. La présence de *S. mutans* a significativement diminué et de manière continue dans le groupe témoin contrairement au groupe expérimental dans lequel une légère diminution n'est apparue qu'entre la deuxième et quatrième semaine. À l'inverse, le taux de *Lactobacillus*, actif dans les caries déjà initiées, a augmenté dans le groupe témoin alors qu'il a diminué dans le groupe expérimental à chaque intervalle de temps. La présence de *Veillonella* a diminué également après deux semaines de traitement avec la solution de grenade, alors que la chlorhexidine s'est révélée bien moins efficace avec une prévalence salivaire plus élevée.

TABLE 3: Mann-Whitney test to compare *S. mutans*, *Lactobacilli*, and *Veillonella* values between groups.

		Group		p value
		PPE	CHX	
<i>S. mutans</i> (copies/ μ l): baseline	N	30	30	0.455
	Mean	2708.0	3772.2	
	Std. Dev	4028.5	7032.0	
<i>S. mutans</i> (copies/ μ l): 2 weeks	N	30	30	0.169
	Mean	4557.0	2367.0	
	Std. Dev	9983.4	5660.2	
<i>S. mutans</i> (copies/ μ l): 4 weeks	N	30	30	0.483
	Mean	3216.9	1414.1	
	Std. Dev	6354.6	2310.1	
<i>Lactobacillus</i> (copies/ μ l): baseline	N	30	30	0.756
	Mean	82149.5	43010.3	
	Std. Dev	188267.5	90490.3	
<i>Lactobacillus</i> (copies/ μ l): 2 weeks	N	30	30	0.064
	Mean	29718.9	89112.6	
	Std. Dev	95025.8	179892.1	
<i>Lactobacillus</i> (copies/ μ l): 4 weeks	N	30	30	0.460
	Mean	244541.2	124800.4	
	Std. Dev	1007671.1	323234.8	
<i>Veillonella</i> (copies/ μ l): baseline	N	30	30	0.344
	Mean	7691.5	10268.8	
	Std. Dev	13925.2	13609.0	
<i>Veillonella</i> (copies/ μ l): 2 weeks	N	30	30	0.767
	Mean	2643.5	5861.1	
	Std. Dev	2249.5	9794.6	
<i>Veillonella</i> (copies/ μ l): 4 weeks	N	30	30	0.469
	Mean	3471.4	10494.6	
	Std. Dev	3630.5	14735.4	

Figure 4 : Prévalence salivaire moyenne de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* et *Veillonella* dans le groupe témoin (chlorhexidine) et expérimental (extrait de grenade), avant traitement par rinçage quotidien, après 2 semaines de traitement et après 4 semaines.

(Source : (Jacob *et al.*, 2021))

Ce contraste d'efficacité antimicrobienne de la chlorhexidine pourrait potentiellement s'expliquer par le développement de résistance particulière de *Veillonella*, en compensation de l'inhibition de *S. mutans*, deux espèces colonisatrices du biofilm. Les polyphénols contenus en masse dans la peau de grenade agissent contre le développement de *S. mutans* et *Lactobacillus* en altérant leur synthèse d'exopolysaccharides et particulièrement de glucan, et inhibent leur activité en chélatant les ions métalliques. La chlorhexidine en revanche engendre leur mort cellulaire en déstabilisant leur pression osmotique par liaison à leur paroi cellulaire. Elle est rétentive sur les surface dentaires grâce à son interaction avec l'hydroxyapatite et la matrice dentinaire. Les polyphénols ont également une bonne capacité d'adhérence aux surfaces dentaires, avec un mécanisme de libération lente et donc relativement continue.

❖ **Activité anti-halitosique**

Par leur action antibactérienne, les polyphénols de la grenade, notamment l'acide gallique, permettent une activité anti-halitosique en réduisant la production de composés sulfurés volatils (CSV) des bactéries cibles.

L'étude *in vitro* menée par Veloso *et al.* a mis en évidence pouvoir inhibiteur de la grenade sur les micro-organismes de la cavité buccale impliqués dans l'halitose, en comparaison avec huit autres plantes médicinales (Veloso *et al.* 2020). Les micro-organismes cibles sont les bactéries à Gram-négatif *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, et la bactérie à Gram positif *Parvimonas micra*, qui produisent des CSV malodorants en dégradant les protéines et les acides aminés, responsables de la mauvaise haleine d'origine buccale.

Parmi huit extraits de plantes, le test de diffusion en gélose a révélé que seul l'extrait de grenade est capable d'inhiber toutes les bactéries testées, avec une zone d'inhibition plus élevée sur *Parvimonas micra* comparativement à la chlorhexidine, et moindre concernant les autres bactéries.

En milieu liquide, la valeur des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides de l'extrait de grenade varie entre 160 et

400µg/mL, l'activité inhibitrice sur *Prevotella intermedia* étant la plus forte et celle sur *Parvimonas micra* étant la plus faible avec une CMI supérieure à 400µm/mL.

De plus, des tests organoleptiques, le gold standard pour l'évaluation subjective de l'halitose, ainsi que des mesures à l'aide d'un halimètre, ont été effectués. Seuls l'extrait de grenade et l'extrait de jucá ont été testés en raison de leur haute teneur en polyphénols, à des concentrations différentes selon la dilution. Les résultats des tests ont révélé que l'extrait de grenade et celui de jucá ont diminué les odeurs et la formation de CSV dans les systèmes de sédiments salivaires testés comparé au groupe contrôle négatif (Figure 4). En effet, dans le système de sédiments salivaire soumis à l'extrait de grenade dilué à 50%, l'halimètre indique une moyenne de CSV égale à 30 après 1 heure d'incubation, et de 37 après 24 heures, alors qu'elle est de 895 dans celui du groupe contrôle négatif après 1 heure pour passer à 1500 à 24 heures. En revanche, le groupe contrôle positif, exposé au gluconate de chlorhexidine concentrée à 0,12%, démontre une nette diminution des CSV du système sédimentaire en passant de 172 à 30,5, après 1 heure puis 24 heures. Les résultats obtenus par l'extrait de grenade dilué à 50% et celui de la chlorhexidine sont remarquablement similaires.

Table 5
Effect of the Jucá and Pomegranate extract on the formation of volatile sulfur compounds and other odors measured in the salivary sediment system.

Hour		D1		D2		D3		PC		NC	
		ORG	HAL	ORG	HAL	ORG	HAL	ORG	HAL	ORG	HAL
Jucá extract	1h	0	29.5 ± 0.7	0	31.5 ± 2.1	0	43.0 ± 14.1	0	172.0 ± 2.8	1	895.0 ± 7.0
	2h	0	36.5 ± 0.7	0	35.5 ± 2.1	0	34.0 ± 4.2	0	146.0 ± 4.9	2	735.0 ± 2.4
	4h	0	38.5 ± 0.7	0	37.5 ± 2.1	0	45.0 ± 1.4	0	50.5 ± 0.7	3	1275.0 ± 35.3
	24h	0	37.0 ± 6.5	0	36.0 ± 5.6	0	72.5 ± 3.5	0	30.5 ± 3.5	4	1500.0 ± 0
Pomegranate extract	1h	0	30.0 ± 0	0	1200.0 ± 0	0	1210.0 ± 14.0	-	-	-	-
	2h	0	30.0 ± 0	0	810.0 ± 14.1	0	1050.0 ± 70.7	-	-	-	-
	4h	0	44.0 ± 1.4	0	925.0 ± 35.3	0	100.0 ± 141.4	-	-	-	-
	24h	0	37.0 ± 3.5	0	555.0 ± 7.0	0	1400.0 ± 0	-	-	-	-

ORG: Organoleptic test; HAL: Reading with Halimeter*: mean and standard deviation. D1: 50 % dilution; D2: 25 % dilution; D3: 12.5 % dilution. Cont. Posit: Positive control with Periogard*; Cont. Neg. : negative control, sediment not exposed to the test substance or positive control.

Figure 5 : Score du test organoleptique (ORG) et numération des CSV et autres odeurs (HAL) dans les systèmes de sédiments salivaires exposés aux extraits de grenade et de jucá en fonction des dilutions et du temps, en comparaison avec les groupes contrôles positif et négatif.

(Source : (Veloso *et al.*, 2021))

L'étude met cependant en avant l'augmentation du nombre de CSV dans le système sédimentaire lorsque l'extrait de grenade est plus dilué, s'accompagnant d'une diminution du pH.

L'acidité du milieu aurait tendance à diminuer les CSV malodorants, bien que la fermentation produite par les bactéries qui se multiplient entraîne elle aussi une baisse de pH.

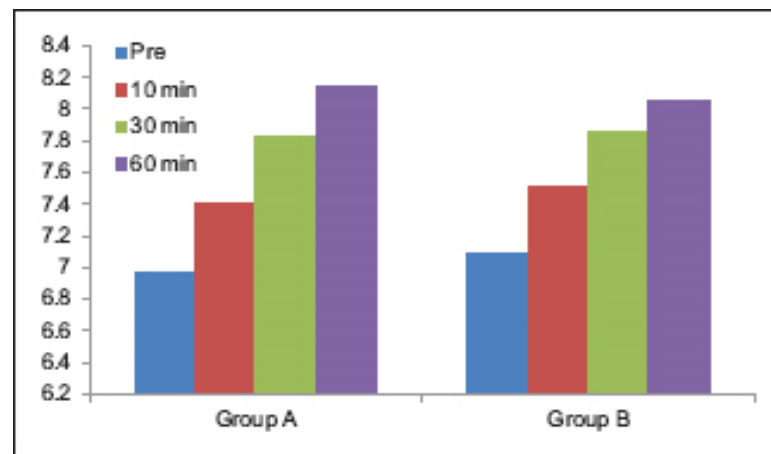
En adaptant la dilution, la grenade peut donc s'avérer comme une substance naturelle utile et efficace pour lutter contre les micro-organismes et les composés à l'origine de l'halitose orale. En effet, l'halitose est influencée par la salive et son pH (Kadam *et al.* 2019). Pendant le sommeil, le repos des muscles et la diminution du flux salivaire entraînent une augmentation des bactéries anaérobies, une baisse de pH salivaire, une accumulation de cellules desquamées et une production accrue de CSV. Les composants de la grenade pourraient être envisagés comme substituants aux agents antiseptiques couramment utilisés dans les bains de bouche et dentifrices pour éliminer les bactéries et remonter le pH salivaire par action chimique tels que la chlorhexidine majoritairement, le chlorure de cétylpyridinium, des sels de zinc, et les huiles essentielles. Il est nécessaire d'associer cette action chimique à l'action mécanique par nettoyage professionnel et brossage dentaire quotidien, avec un brossage lingual pour éliminer l'enduit lingual principalement responsable de l'halitose, ainsi qu'une action mécanique par la salivation (Kadam *et al.* 2019).

❖ Modulation du pH salivaire

La grenade et ses composants auraient une capacité semblable à celle de la chlorhexidine pour remonter le pH salivaire, favorisant le potentiel anti-halitosique et anti-cariogénique. En effet, les bactéries cariogènes, comme les colonisateurs primaires *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus*, utilisent les sucres de l'alimentation pour produire des polysaccharides extracellulaires et former le biofilm, ceci en produisant des acides qui diminuent le pH salivaire et entame la déminéralisation de l'émail. En plus du processus carieux, l'accumulation du biofilm est responsable de l'initiation de la gingivite. C'est pourquoi il est nécessaire de maintenir un bon contrôle de plaque, qui se traduit par une action antibactérienne et le maintien d'un pH salivaire neutre. Le bain de bouche à la chlorhexidine est le *gold standard* pour réduire ces bactéries cariogènes et désorganiser la plaque dentaire.

L'étude de Kadam *et al.* porte sur deux groupes d'enfants âgés de 6 à 8 ans qui effectuent pendant deux minutes un bain de bouche, l'un à la chlorhexidine 0,2% (groupe A), en comparaison avec l'autre groupe effectuant des bains de bouches à

l'extrait d'écorce de grenade (groupe B). Les résultats ont révélé que le bain de bouche à base de grenade a le même pouvoir de remonter le pH salivaire comparativement à celui contenant la chlorhexidine, ceci dans un court laps de temps (Figure 2). Avant le rinçage, les moyennes du pH salivaire du groupe A et B sont respectivement de 6,96 et de 7,09 ; 10 minutes après le rinçage, les moyennes augmentent respectivement à 7,41 et 7,51, pour atteindre un pH moyen de 8,15 et 8,05 respectivement après 60 minutes. L'extrait de grenade s'est donc révélé significativement efficace ($p < 0,001$) pour remonter le pH salivaire dans cette étude *in vivo*, prouvant son potentiel anticariogénique au même titre que la chlorhexidine selon les résultats obtenus grâce au pH mètre. Nous pouvons cependant noter la limite de cette étude expérimentale, qui ne teste le bain de bouche à base de grenade qu'à une seule et unique concentration.



Graph 1: Comparison of salivary pH of both the groups at different time intervals

Figure 6 : Valeurs obtenues avec le pH-mètre dans le groupe A (Chlorhexidine) et le groupe B (écorce de grenade), avant rinçage, 10min après, 30min après et 60min après.

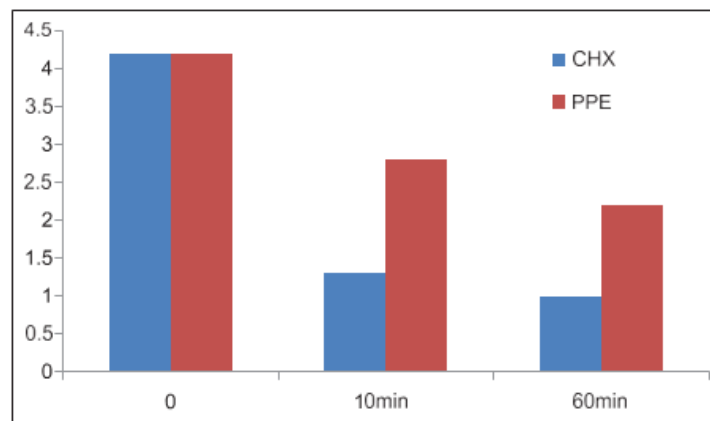
(Source : (Kadam *et al.*, 2019))

La grenade peut donc s'avérer comme un élément naturel de substitution à la chlorhexidine et ses effets indésirables, par son activité antibactérienne et sa capacité à remonter le pH salivaire. Les résultats de cette étude sont cohérents avec l'étude suivante, réalisée par Umar *et al.*

Cette dernière a été menée sur cinquante sujets âgés de 15 à 25 ans, séparés en deux groupes, l'un utilisant un bain de bouche à base d'écorce de grenade et l'autre un bain de bouche de chlorhexidine (Umar *et al.* 2016).

Un test de diffusion sur gélose a déterminé qu'un extrait d'écorce de grenade serait utilisé dans l'étude en raison de sa plus grande action antibactérienne contre *Streptococcus mutans* révélée par le test *in vitro* comparé aux extraits d'arilles ou de jus de grenade : la zone d'inhibition était la plus grande pour l'extrait d'écorce avec une concentration minimale inhibitrice de 300mg/mL.

Le pouvoir antibactérien du bain de bouche à base d'écorce de grenade dans le groupe B a été jugé significativement efficace contre *Streptococcus mutans* dix minutes après le rinçage, avec une nette diminution de leur numération salivaire, et toujours concluant soixante minutes après le rinçage (Figure 3). Néanmoins, le groupe A indique des résultats encore plus probants dix et soixante minutes après le rinçage par solution de chlorhexidine.



Graph 1: Comparison of the mean of log10 values of *Streptococcus mutans* count after chlorhexidine and pomegranate peel extract mouthrinse

Figure 7 : Valeurs de la numération salivaire de *Streptococcus mutans* avant rinçage, 10min après et 60min après, avec la Chlorhexidine (bleu) et l'extrait de grenade (rouge).

(Source : (Umar et coll., 2016))

Umar *et al.* prouvent notamment la faculté de l'extrait de grenade à remonter le pH salivaire de manière significative et similaire à la chlorhexidine au bout de dix minutes et soixante minutes, bien que les deux résultats ne diffèrent que très peu entre temps (Figure 4).

Table 1: Comparison of the salivary pH changes after 10 min and 60 min

	Mean	SD	t	P
Pair 1				
pH before	6.65	0.474	-11.000	0.003
pH 10 min	8.300	0.5375		
Pair 2				
pH before	6.65	0.474	-7.667	0.006
pH 60 min	7.80	0.537		

SD: Standard deviation

Figure 8 : Valeurs moyennes de pH salivaire obtenues avant rinçage, 10min après le rinçage et 60min après le rinçage.

(Source : (Umar *et al.*, 2016))

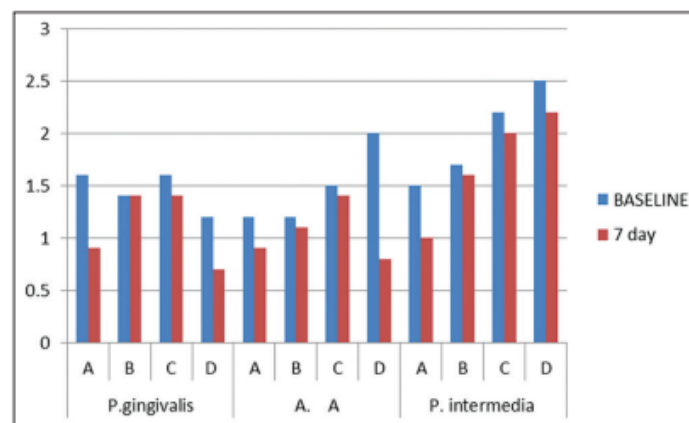
Ces résultats démontrent ainsi le potentiel anti-cariogénique de la grenade et ses composants.

Les résultats éloquentes de ces études appuient le fait que les composants phénoliques de la grenade, et particulièrement ceux issus de la peau, ont une activité antimicrobienne certaine sur les micro-organismes cariogènes et pathogènes de la cavité buccale. Il reste cependant à déterminer la concentration d'extrait de grenade la plus appropriée afin de l'utiliser en bain de bouche ou en dentifrice, en exploitant les résultats d'autres études expérimentales.

❖ **Action contre la plaque dentaire et anti-cariogénique**

Une action anti-plaque et anti-cariogénique est attribuée aux tanins contenus dans la grenade, qui sont capables d'inhiber une enzyme digestive salivaire nommée α -amylase. Cette enzyme se lie à l'émail et aux Streptocoques oraux, et catalyse l'amidon en oligosaccharides, servant de substrats aux bactéries de la plaque dentaire. En inhibant l' α -amylase, ces tanins défavorisent alors l'initiation et le développement de la plaque dentaire. De même, leur action inhibitrice sur l'enzyme glycosyltransférase, nécessaire à l'adhérence des micro-organismes aux surfaces dentaires, à la production d'exopolysaccharides (EPS) et l'initiation du biofilm, contribue à prévenir la formation de plaque dentaire, l'initiation du processus carieux, la formation de tartre et les maladies parodontales comme la gingivite qui s'en suivent (Kadam *et al.* 2019)

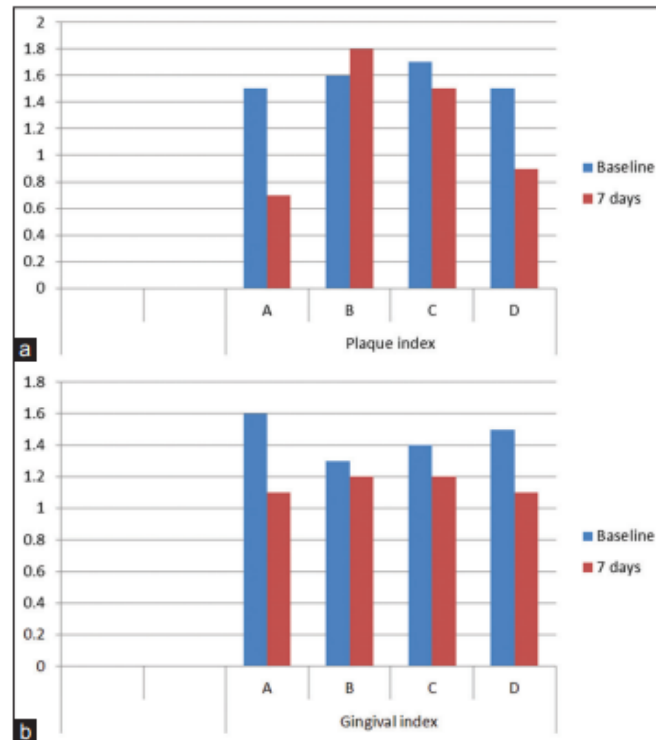
La capacité antibactérienne de la grenade pour contrôler la plaque dentaire a été mise en évidence par Sahgal *et al.* (Sahgal *et al.* 2015). Après un détartrage/surfaçage radiculaire sur quarante patients atteints de parodontite chronique, un gel à base soit de grenade, d'*Aloe vera*, de chlorhexidine ou placebo a été appliqué pendant sept jours. L'application de gel de grenade a permis une diminution significative de la quantité et qualité des bactéries *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et *Prevotella intermedia* dans la plaque sous-gingivale, avec une amélioration remarquable de l'indice de plaque et de l'indice gingival, comparable à l'application du gel de chlorhexidine, et plus efficace que l'application du gel témoin placebo et du gel d'*Aloe vera*.



Graph 1: Preapplication and postapplication qualitative bacterial analysis.

Figure 32 : Analyse qualitative et quantitative bactérienne de la plaque sous-gingivale, avant et après 7 jours d'application des différents gels (A=Grenade ; B=Placebo ; C=*Aloe vera* ; D=Chlorhexidine)

(Source : (Sahgal *et al.*, 2015))



Graph 2: Clinical indices at baseline and at 7th day. (a) Plaque index. (b) Gingival index.

Figure 33 : Moyennes de l'indice de plaque (a) et l'indice gingival (b), avant et après 7 jours d'application des différents types de gels

(Source : (Sahgal *et al.*, 2015))

Ces résultats encouragent la recherche sur les capacités de la grenade à contrôler la plaque dentaire et l'inflammation gingivale, en tant que gel adjuvant au traitement mécanique professionnel.

Dans l'étude menée par Bhadbhade *et al.*, les sujets se rinçant la bouche à raison de deux fois par jour pendant une minute, avec une solution à 4% d'extrait de grenade, ont présenté un indice de plaque significativement réduit au quatrième jour par rapport aux sujets utilisant un bain de bouche placebo mais semblable à ceux utilisant la chlorhexidine, et n'ont pas présenté d'effets indésirables tels qu'une desquamation de l'épithélium gingival, une sensation de brûlure ou l'altération du goût (Bhadbhade *et al.* 2011). L'analyse *in vitro* sur fond de gélose des cultures bactériennes de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia* soumises aux différents bains de bouche ont quant à elles révélé l'action antibactérienne *in vitro* de la grenade avec des CMI différentes pour

chaque espèce. Cette étude suggère que l'extrait de grenade aurait un effet anti-plaque intéressant et similaire à celui de la chlorhexidine à court terme.

Cet effet anti-plaque est confirmé selon Howell et D'Souza, par une étude menée sur des adolescents et jeunes adultes porteurs d'appareils orthodontiques, chez qui le rinçage à l'extrait de grenade a permis une réduction de la plaque dentaire significative et équivalente au rinçage à la chlorhexidine, et bien plus efficace que le rinçage à l'eau distillée (84% de réduction de UFC/mL *versus* 11% pour le rinçage placebo). Cette activité antibactérienne est attribuée en majorité aux composés phénoliques, particulièrement l'acide ellagique et la punicalagine (Howell et D'Souza 2013).

De plus, le potentiel anti-cariogénique de l'extrait de grenade a été établi *in vitro* par Gulube et Patel, à travers leur étude mettant en exergue une inhibition des facteurs de virulence de *Streptococcus mutans* par l'exposition à cet extrait (Gulube et Patel 2016). *S. mutans* est impliqué dans le processus de déminéralisation dentaire en fermentant rapidement le saccharose alimentaire en acide et produisant des exopolysaccharides (EPS) solubles et insolubles, nécessaires pour l'adhérence aux surfaces et le développement du biofilm. Les trois moyens de permettre l'adhérence bactérienne aux surfaces sont la présence d'adhésines fibrillaires de surface, la glucosyltransférase (enzyme de la famille des glycosyltransférases, nécessaire pour produire les EPS dont le glucane), et la protéine de liaison au glucane. Considérés comme des facteurs de virulence, la production d'acide, d'EPS et la formation de biofilm doivent être restreints pour prévenir le développement carieux. C'est pourquoi la chlorhexidine, étalon-or des agents antimicrobiens pour la cavité buccale, le fluor, le triclosan et l'iode sont employés comme adjuvant dans la prévention de l'hygiène bucco-dentaire. L'effet de l'extrait de grenade sur ces facteurs de virulence a été étudié *in vitro*, à des concentrations sub-bactéricides (1,56 mg/mL, 3,125 et 6,25 mg/mL) et en comparaison avec la chlorhexidine et l'eau (témoin négatif). Avec le maintien du nombre de bactéries grâce aux concentrations adaptées, la réduction significative de l'acidité des cultures a prouvé l'effet inhibiteur de l'extrait de grenade sur la forme planctonique de *S. mutans*, ainsi qu'une inhibition de la formation de biofilm, en comparaison aux deux autres solutions témoins.

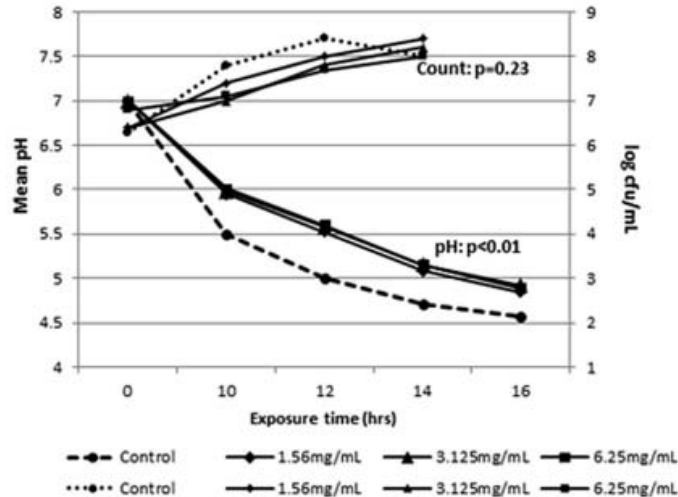


Fig. 1. Effect of peel of *P. granatum* on the acid production by planktonic *S. mutans* (n = 15). DMSO had no effect on the acid production.

Figure 34 : Comparaison de l'acidité dans les cultures de *S. mutans* sous forme planctonique et du nombre de *S. mutans*, entre l'exposition à l'extrait de grenade selon différentes concentrations et l'exposition aux solutions témoins, en fonction du temps

(Source : (Gulube et Patel, 2016))

L'inhibition du développement de biofilm est particulièrement probante à 6 heures d'exposition, pour devenir continuellement moins efficace après 24 puis 30 heures.

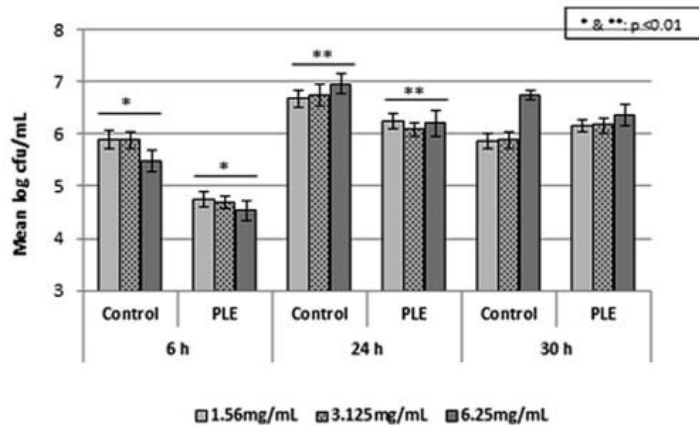


Fig. 2. Effect of peel of *P. granatum* on the biofilm formation by *S. mutans* (n = 15). Bars represent overall comparisons. *: At 6 h, comparison of controls to 3 sub-bactericidal concentrations (p < 0.01), **: At 24 h, comparison of controls to 3 sub-bactericidal concentrations (p < 0.01).

Figure 35 : Prévalence de la formation de biofilm dans les cultures exposées à l'extrait de grenade selon trois concentrations, et celles exposées aux solutions témoins, à 6, 24 et 30 heures

(Source : (Gulube et Patel, 2016))

De plus, une réduction éloquent et dose-dépendante de la production d'EPS insolubles est mise en évidence dans les cultures de *S. mutans* sous forme planctonique et particulièrement sous forme de biofilm, bien que l'extrait de grenade

n'ait pas eu d'effet inhibiteur sur la production d'EPS solubles. Cet effet sur les EPS insolubles suppose une action inhibitrice de la grenade sur la glycosyltransférase, nécessaire à leur production. Les résultats de cette étude encouragent donc l'idée que la grenade a un potentiel anti-cariogénique en perturbant les facteurs de virulence de *S. mutans*.

Afin de mieux comprendre le potentiel anti-cariogénique de la grenade, une étude a analysé son rôle dans l'expression des gènes de l'enzyme glycosyltransférase sur *Streptococcus mutans* (Vahid-Dastjerdi *et al.* 2016). Comme vu précédemment, la glycosyltransférase est nécessaire à *S. mutans* pour initier la formation du biofilm en produisant des EPS solubles et insolubles, dont les glucanes en particulier. Pour rappel, les bactéries *Streptococcus mutans* sont les principaux colonisateurs primaires du biofilm dentaire, accompagnés des espèces *Actinomyces spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Eikenella spp.*, *Prevotella spp.* et *Veillonella spp.*.

Exposée à l'extrait de grenade à une concentration sub-bactéricide de 6,125 mg/mL, la culture de *S. mutans* a présenté une diminution éloquent de l'expression de gènes de la glycosyltransférase par rapport à la culture de *S. mutans* non traitée, tout comme avec l'extrait d'une autre plante, *Rhus coriaria*, avec laquelle l'inhibition s'est révélée la plus efficace.

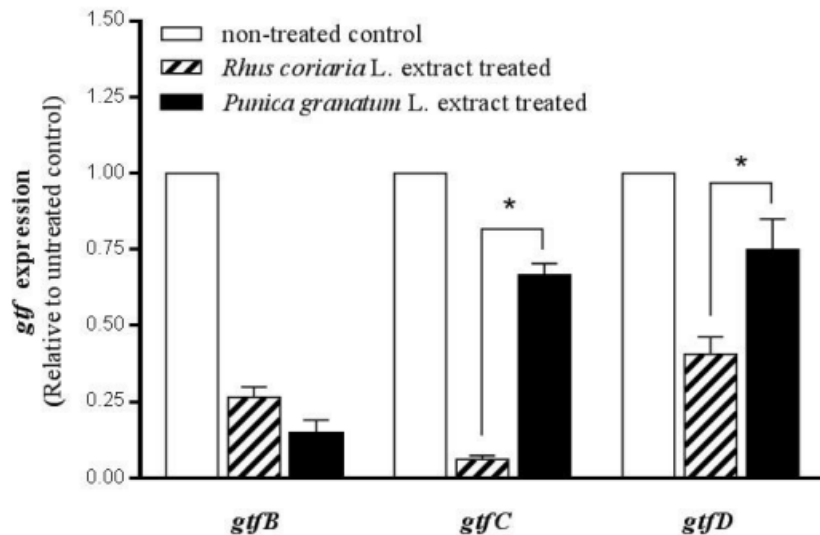


Figure 2. Comparison effects of *Punica granatum* L. flower and *Rhus coriaria* L. fruit water extracts on *gtfB*, *gtfC*, and *gtfD* gene expression. The planktonic cultures of *S. mutans* were treated with MBIC (sub-MIC) level of water extracts (6.125 mg/mL for *Punica granatum* L. and 0.39 mg/mL for *Rhus coriaria* L.). The expression rate in non-treated cultures (control) was considered to be 1. Stars (*) in-between the columns indicate significant differences (n-fold) between the groups (P<0.05).

Figure 36 : Taux d'expression de 3 types de gènes de la GTF dans les cultures non traitées (contrôle) et traitées à l'extrait de grenade et à l'extrait de *Rhus coriaria*

(Source : (Vahid-Dastjerdi *et al.*, 2016))

La grenade aurait donc le potentiel de prévenir l'attachement de *S. mutans*, et peut-être d'autres espèces bactériennes, à la surface dentaire ainsi que le développement et la maturation du biofilm. Ce potentiel est supposément attribué aux polyphénols. Selon une précédente étude, la catéchine et l'épigallocatechine permettraient cette inhibition génique.

Tableau 3 : Étude concernant l'efficacité de la grenade et ses composants en hygiène orale

Auteur, date, Référence	Objectif de l'étude	Méthode	Résultats	Conclusion
Abdollahza deh <i>et al.</i> , 2011	Évaluer l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> de la grenade contre huit agents microbiens impliqués dans les infections bucco-dentaires	Comparaison des zones d'inhibition contre les bactéries <i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>aureus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>S. sanguinis</i> et <i>S. salivarius</i> , et le champignon <i>Candida albicans</i> , exposés à trois concentrations d'extrait de grenade différentes (4, 8 et 12 mg/mL), et au témoin positif composé de Nystatine et Ciprofloxacine	Zones d'inhibition moins importantes avec l'extrait de grenade par rapport au témoin positif présentes contre tous les agents microbiens, mais : <ul style="list-style-type: none"> ❖ Non -ignificative contre <i>C. albicans</i> et <i>A. viscosus</i>, ❖ Significatives contre <i>Streptococcus mutans</i>, <i>S. sanguinis</i> et <i>S. salivarius</i>, et <i>Lactobacillus acidophilus</i> pour des concentrations de 8 et 12 mg/mL, ❖ Significatives contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> dès 4 mg/mL. (Cf. Figure 11)	Grenade efficace pour inhiber <i>in vitro</i> les agents microbiens responsables d'infections bucco-dentaires, mais moins efficace que la combinaison ciprofloxacine/nystatine
Howell et D'Souza, 2013	Revue de littérature exposant l'effet antibactérien et antiviral de la grenade	Synthèse de résultats de diverses études expérimentales menées sur l'action antibactérienne et antivirale de la grenade et ses composés, bénéfiques pour la santé de l'Homme	Actions antibactérienne <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> d'extrait de grenade, utiles pour réduire les pathogènes oraux, la plaque dentaire, la gingivite et la parodontite. Actions antivirales <i>in vitro</i> de la grenade encourageantes contre les norovirus, le VIH, le HSV et le virus de la grippe, nécessitant des essais cliniques.	Grenade présente action antibactérienne et antivirale avérées <i>in vitro</i> et bénéfiques pour la santé orale
Veloso <i>et al.</i> , 2020	Efficacité <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne de l'extrait de grenade contre les micro-organismes producteurs de composés sulfurés volatils, responsables de l'halitose	Comparaison des zones d'inhibition contre <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> et <i>Parvimonas micra</i> obtenues avec 8 autres extraits de plantes et la chlorhexidine par le test de diffusion en gélose, détermination des concentrations minimales inhibitrices par microdilution, et mesures organoleptiques des sédiments salivaires exposés aux extraits de grenade et de jucá après 1,2,4 et 24 heures d'incubation, selon trois dilutions différentes	<ul style="list-style-type: none"> • Zone d'inhibition sur disques de gélose présente sur tous les micro-organismes testés, variant de 3,0 à 10,3 mm pour l'extrait de grenade. Seul l'extrait de grenade a inhibé toutes les bactéries testées avec la chlorhexidine • Les concentrations minimales inhibitrices de la grenade varient entre 160 et 400µm/mL • Diminution remarquable du taux de CSV dans les sédiments salivaires avec l'extrait de grenade dilué à 50% entre 1 et 24 heures, comparé au groupe contrôle négatif : résultats semblables à ceux de la chlorhexidine 	Grenade efficace contre l'halitose orale, par inhibition des agents bactériens responsables et inhibition des CSV

Kadam et al., 2019	Évaluer l'effet <i>in vivo</i> sur le pH salivaire de la grenade, utilisée en bain de bouche, sur des enfants de 6 à 8 ans, en comparaison avec la chlorhexidine	Comparaison du pH salivaire dans le groupe ayant reçu le bain de bouche à l'extrait de grenade et le groupe ayant reçu celui à la chlorhexidine à 0,2%. Mesures prises avec un pH-mètre avant le rinçage, 10min, 30min et 60min après.	Augmentation significative et similaire du pH salivaire dans les deux groupes. Groupe A (chlorhexidine) : <ul style="list-style-type: none"> • 6,96 avant rinçage • 7,41 après 10min • 7,82 après 30min • 8,15 après 60min Groupe B (grenade) : <ul style="list-style-type: none"> • 7,09 avant rinçage • 7,51 après 10min • 7,86 après 30min • 8,05 après 60min 	Efficacité de la grenade comme solution de rinçage pour remonter le pH salivaire et dans la prévention de l'hygiène bucco-dentaire chez les enfants
Umar et al., 2016	Évaluer l'efficacité <i>in vivo</i> de la grenade pour remonter le pH salivaire chez les jeunes adultes (15 à 25 ans) et son efficacité contre <i>Streptococcus mutans</i> , en comparaison avec l'efficacité de la chlorhexidine	Comparaison de la numération salivaire de <i>Streptococcus mutans</i> et du pH salivaire des prélèvements salivaires entre le groupe effectuant des bains de bouche à l'écorce de grenade et le groupe effectuant des bains de bouche à la Chlorhexidine à 0,2%, avant rinçage, après 10min et après 60min	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution significative du taux de <i>Streptococcus mutans</i> 10min après le rinçage et 60min après avec le bain de bouche à la grenade, bien que résultats moindres par rapport à la chlorhexidine (Cf Figure 3) • Augmentation probante du pH salivaire dans les deux groupes ; mais différence de valeur non significative entre celle à 10min et celle à 60min après rinçage (Cf Figure 4) 	Efficacité de la grenade en tant qu'agent anti-cariogène, pour son activité antibactérienne contre <i>Streptococcus mutans</i> et sa capacité à remonter le pH salivaire chez les jeunes adultes.
Jacob et al., 2021	Efficacité antimicrobienne <i>in vivo</i> de la grenade en bain de bouche chez des patients à haut risque carieux	Comparaison chez 60 individus à haut risque carieux de la quantité bactérienne salivaire de <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> et <i>Veillonella</i> , avant rinçage au bain de bouche à la grenade ou à la chlorhexidine, puis après 2 semaines puis 4 semaines de traitement, par réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse (rt-PCR)	Action antimicrobienne objectivée contre toutes les espèces testées mais de façon différentielle avec la solution de rinçage à l'extrait de grenade, avec une plus faible efficacité contre <i>S. mutans</i> comparativement à la chlorhexidine (Cf. Figure 5)	Grenade efficace comme agent antibactérien naturel pour bain de bouche contre <i>Lactobacillus</i> et <i>Veillonella</i> , mais efficacité moindre contre <i>S. mutans</i> par rapport à la chlorhexidine

Sahgal <i>et al.</i> , 2015	Évaluer la capacité anti-inflammatoire et antibactérienne de la grenade <i>in vivo</i> , en comparaison avec l' <i>Aloe vera</i> et la chlorhexidine	Comparaison chez 40 sujets atteints de parodontite chronique de l'indice de plaque, de l'indice gingival et de la numération bactérienne de la plaque sous-gingivale (<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> et <i>Prevotella intermedia</i>), avant et après 7 jours de traitement par gel de grenade, gel d' <i>Aloe vera</i> , gel de chlorhexidine ou gel placebo, et ayant subi un nettoyage mécanique professionnel au préalable	Diminution significative de la qualité et de la quantité bactérienne dans la plaque sous-gingivale, réduction de l'indice de plaque et de l'indice gingival avec le gel de grenade, comparativement au gel de chlorhexidine, d' <i>Aloe vera</i> et placebo. (Cf. Figures 6 et 7)	Grenade efficace pour aider à contrôler la plaque dentaire et l'inflammation gingivale, en association avec un nettoyage professionnel mécanique, comparable à la Chlorhexidine
Bhadbhade <i>et al.</i> , 2011	Évaluer les effets de la grenade en bain de bouche sur la plaque dentaire, contre certains agents parodontogènes, et les effets indésirables	Évaluation de l'action de solution à l'extrait de grenade contre 3 agents parodontogènes (<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , et <i>Prevotella intermedia</i>) et comparaison de l'indice de plaque et des effets indésirables sur 30 sujets utilisant un bain de bouche 2 fois par jour pendant 4 jours, soit à base de grenade à 4%, à la chlorhexidine 0,2% ou placebo, avec abstention de méthodes d'hygiène mécaniques ou chimiques et ayant effectué un détartrage et polissage préalablement	<ul style="list-style-type: none"> • Pas d'effets indésirables détectés avec gel de grenade. • Augmentation de l'IP avec tous les gels entre J0 et J5. • Différence significative d'IP à J5 entre le placebo et le bain de bouche de grenade, mais pas entre la solution de grenade et la chlorhexidine : <ul style="list-style-type: none"> ➤ Clorhexidine : [0,3537±0,3157] ➤ Grenade : [0,5176±0,3744] ➤ Placebo : [0,7968±0,4918] • Inhibition significative des trois bactéries parodontogènes par le bain de bouche de grenade mais à diverses concentrations : <ul style="list-style-type: none"> ➤ 16,125 mg/mL pour <i>P. intermedia</i> ➤ 31,25 mg/mL pour <i>P. gingivalis</i> ➤ 62,5 mg/mL pour <i>A. actinomycetemcomitans</i> 	Grenade efficace pour le contrôle de plaque à court terme, utilisé en bain de bouche, sans effet indésirables associés, en complément d'un nettoyage mécanique au préalable
Gulube et Patel, 2016	Effet <i>in vitro</i> d'extrait de grenade sur la formation de biofilm, la production d'acide et de polysaccharides extracellulaires par <i>Streptococcus mutans</i>	Comparaison de l'acidité du milieu dans les cultures de <i>S. mutans</i> exposés à l'extrait de grenade et aux solutions témoins (chlorhexidine / eau), de la formation de biofilm et de la quantité d'EPS solubles et insolubles produits	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction significative de la formation du biofilm • Réduction de la production d'acide • Réduction significative de la production d'EPS insolubles dans le biofilm en particulier et dans la forme planctonique, mais pas d'effet sur les EPS solubles. (Cf. Figures 8 et 9)	Grenade efficace pour inhiber les facteurs de virulence de <i>Streptococcus mutans</i> , potentiel anti-cariogénique

<p>Vahid-Dastjerdi <i>et al.</i>, 2016</p>	<p>Évaluer l'effet de la grenade sur l'expression des gènes de la glycosyltransférase (GTF) sur <i>Streptococcus mutans</i></p>	<p>Meure quantitative de l'expression de gènes de la glycosyltransférase (codant pour des enzymes qui produisent des glucanes solubles et insolubles) dans des cultures de <i>S. mutans</i> exposées à un extrait de grenade et à un extrait de plante <i>Rhus coriaria</i>, par réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse (RT-PCR)</p>	<p>Diminution significative de l'expression des trois types de gènes par l'extrait de grenade : $85,3 \pm 7.5\%$ pour gène B, $33,3 \pm 6,4\%$ pour gène C and $25 \pm 14\%$ pour gène D par rapport au groupe témoin, et diminution également de leur expression par l'extrait de <i>Rhus coriaria</i>. ($p < 0,05$)</p>	<p>Grenade efficace pour inhiber les gènes de <i>S. mutans</i> liés à la formation de biofilm dentaire, potentiel anti-plaque</p>
--	---	--	--	---

2.2.3. Odontologie conservatrice

❖ **Restauration adhésive**

Le potentiel antioxydant de la grenade attribué aux tanins qu'elle contient, particulièrement la punicalagine, permettrait son utilisation en odontologie conservatrice.

La littérature décrit une diminution du taux de calcium au niveau des dents exposées au peroxyde d'hydrogène suite à un traitement d'éclaircissement dentaire, ainsi qu'un état de surface présentant des porosités dues aux radicaux libres piégés dans l'émail sous forme bulleuse : ces facteurs participent à la fragilisation de l'adhésion de la résine composite à la surface dentaire. Il est courant d'utiliser l'acide ascorbique afin de réduire les résidus de ces radicaux libres produits à la surface amélaire suite au traitement par peroxyde d'hydrogène qui entrave la polymérisation et donc la bonne adhésion des résines composites, d'autant plus si le laps de temps entre le traitement éclaircissant et le soin restaurateur est court. La grenade offrirait une solution alternative grâce à sa capacité de réduction des radicaux libres. En stabilisant les électrons et délivrant des atomes d'hydrogène, les tanins limitent les réactions d'oxydation en chaîne, ce qui potentialise la polymérisation et la force d'adhésion de la résine composite, sa tension superficielle ainsi que sa résistance au cisaillement. L'*Aloe vera* et l'extrait de romarin sont aussi jugés efficaces comme antioxydants, ainsi que le bicarbonate de sodium. Ceci étant, le meilleur moyen de pallier à cet effet est de laisser passer un délai de 24 heures à 3 semaines entre la fin du traitement éclaircissant et la réalisation de la restauration, mais ce délai ne peut être toujours respecté, par manque de temps ou pour des raisons d'ordre esthétique.

Suratno *et al.* ont mis en évidence l'intérêt de l'utilisation de la grenade comme agent antioxydant après un éclaircissement dentaire au peroxyde d'hydrogène à 40%, en comparaison avec l'utilisation d'acide ascorbique habituellement employé, permettant ensuite une meilleure tenue des restaurations en résine (Suratno *et al.* 2021). Ils ont mené pour cela une étude sur la capacité d'un gel composé d'extrait de grenade à 5% et d'un autre à 10%, à augmenter la résistance des restaurations à la résine composite aux forces de cisaillement, par rapport à celle d'un gel d'extrait d'acide ascorbique à 10%, et celle d'un groupe témoin négatif, ceci sur trente-deux premières prémolaires maxillaires ayant été préalablement traitées par un gel au

peroxyde d'hydrogène, et ayant reçu par la suite une restauration de résine composite nano hybride.

Les résultats du test de cisaillement réalisé par une machine d'essai universelle (UTM) ont démontré une résistance de la résine composite significativement plus élevée pour les dents traitées par le gel concentré à 10% d'extrait de grenade, avec une résistance moyenne au cisaillement de 42,50 MPa, tandis que les dents traitées au gel d'acide ascorbique ont révélé une résistance moyenne de 15,31 MPa.

Table 1. One-way ANOVA test result: shear bond strength

Group	Mean	Standard Deviation
P1	11.56 Mpa	3.5197
P2	42.50 Mpa	19.7303
K1	15.31 Mpa	3.6443
K2	4.50 Mpa	2.9881

Note: P1: Gel treatment pomegranate extract 5%; P2: 10% pomegranate extract gel treatment; K1: positive control 10% ascorbic acid gel; K2: negative control.

Figure 37 : Valeurs moyennes de résistance aux forces des résines nano-hybrides en fonction des différents gels testés.

(Source : (Suratno *et al.*, 2021))

Le groupe témoin négatif démontre l'importance de la réduction de cette couche d'oxydation à la surface dentaire après éclaircissement avec une moyenne de 4,50 MPa. En revanche, la différence des résultats entre les dents traitées au gel d'extrait de grenade à 5% et les dents traitées au gel d'acide ascorbique à 10% n'a pas été significative avec des moyennes sensiblement équivalentes.

Ces résultats permettent de conclure que le gel d'extrait de grenade est bien efficace comme agent antioxydant, tout autant que le gel d'extrait d'acide ascorbique lorsque la concentration est de 5%, et qu'il l'est encore plus à une concentration de 10%, ceci de manière significative.

On peut donc envisager l'utilité d'un gel à base d'extrait de grenade après un traitement éclaircissant des dents préalablement à une restauration à la résine composite afin d'augmenter l'adhésion de la restauration et d'améliorer sa longévité.

Les résultats de cette étude sont cohérents avec celle menée antérieurement par Mukka *et al.* qui démontre également la capacité d'une solution d'extrait de grenade concentrée à 5% d'augmenter la résistance au cisaillement d'une restauration

adhésive immédiatement après un éclaircissement dentaire au peroxyde d'hydrogène à 40%, comparativement à la résistance d'une restauration adhésive sur dent éclaircie non traitée par un antioxydant (Mukka *et al.* 2016).

❖ Coiffage pulpaire direct

Un matériau de coiffage pulpaire en méthode directe à base des composés de la grenade serait intéressant à envisager compte tenu de son pouvoir anti-inflammatoire. En effet, l'acide ellagique peut inhiber le facteur de transcription NF-κB, qui une fois activé en temps normal, se déplace dans le noyau cellulaire et active la transcription de gènes cibles de l'inflammation, comme ceux des interleukines IL-6, IL-1β, TNF-α et la cyclooxygénase-2. Cette inhibition par l'acide ellagique peut s'effectuer de trois manières :

- En bloquant le signal stimulant, par liaison du ligand au récepteur
- En dégradant/inhibant la protéine kinase inhibitrice IκB, qui a pour rôle d'activer NF-κB
- En inhibant la translocation de NF-κB au niveau nucléaire et sa liaison à l'ADN

Le potentiel de la grenade en tant que matériau de recouvrement de la pulpe exposée suite à un traumatisme mécanique a été étudié par Nirwana *et al.* (Nirwana *et al.* 2017). Leur étude menée sur dix-huit rongeurs présentant une exposition pulpaire recouverte soit par un gel placebo (au carboxyméthyl cellulose de sodium à 3%), soit par un gel à base d'extrait de grenade à 2,5%, soit par de l'hydroxyde de calcium comme témoins positifs, a montré une nette diminution du facteur NF-κB présent dans la pulpe lorsqu'elle est au contact du gel de grenade.

Group	N	Mean of NF-κB	SD
A (control)	6	19.3333 ^a	2.33809
B (Ca(OH) ₂)	6	10.3333 ^b	1.75119
C (Extract)	6	3.6667 ^c	1.21106

Table 1. Mean and standard deviation of each group.

Figure 38 : Taux d'expression du facteur NF-κB au niveau pulpaire dans le groupe contrôle (A), le groupe exposé à l'hydroxyde de calcium (B) et le groupe exposé au gel de grenade (C)

(Source : (Nirwana *et al.*, 2017))

Cette inhibition de NF- κ B implique une diminution de production des cytokines pro-inflammatoires, et par conséquent un effet anti-inflammatoire du coiffage par le gel à base de grenade, possiblement plus efficace que celui de l'hydroxyde de calcium au vu du plus fort taux d'expression de NF- κ B. En revanche, l'effet de la grenade sur la survie pulpaire et le potentiel de reminéralisation dentinaire au long terme restent à étudier.

❖ Endodontie

L'activité antibactérienne conférée à la grenade a permis d'ouvrir ses champs de capacités thérapeutiques au domaine de l'endodontie. Son efficacité en tant que solution d'irrigation endo-canalair est étudiée, notamment contre *Enterococcus faecalis* qui est une bactérie commensale à Gram positif souvent responsable d'échec du traitement endodontique par sa forte capacité de résistance et sa persistance au niveau des lésions péri-radiculaires.

Une étude *in vitro* a été réalisée par Sisodiya, portant sur l'efficacité de la grenade en tant que solution d'irrigation désinfectante du système canalair pour le traitement endodontique (Sisodiya *et al.* 2021). En comparant les zones d'inhibition avec le test des puits en gélose contre *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Staphylococcus epidermidis* de l'extrait aqueux de grenade à 20% avec l'hypochlorite de sodium à 2,5%, avec la chlorhexidine à 0,2% et avec les extraits de Myrrhe et de Tulsi, l'extrait de grenade est apparu comme le moins efficace, avec une CMI plus élevée que les autres (Figure 7).

Table 1: Zone of inhibition against *Enterococcus faecalis*

Groups	Mean (mm)	SD	P
Group I	18.21	0.13	0.001
Group II	20.14	1.18	
Group III	21.37	1.97	
Group IV	19.73	0.14	
Group V	15.12	0.71	

ANOVA test, $P < 0.05$ (significant). SD: Standard deviation

Table 2: Zone of inhibition against *Fusobacterium nucleatum*

Groups	Mean (mm)	SD	P
Group I	16.82	0.15	0.001
Group II	20.41	0.10	
Group III	21.37	1.02	
Group IV	19.86	1.04	
Group V	18.27	0.19	

ANOVA test, $P < 0.05$ (significant). SD: Standard deviation

Table 3: Zone of inhibition against *Staphylococci epidermidis*

Groups	Mean (mm)	SD	P
Group I	18.17	0.19	0.001
Group II	22.51	0.13	
Group III	22.74	1.09	
Group IV	20.16	1.01	
Group V	19.17	0.23	

ANOVA test, $P < 0.05$ (significant). SD: Standard deviation

Figure 39 : Moyennes des zones d'inhibition contre *E. faecalis*, *F. nucleatum* et *S. epidermidis*, pour chaque groupe (I = grenade ; II = chlorhexidine ; III = hypochlorite de sodium ; IV = tulsii ; V = myrrhe)

(Source : (Sisodiya *et al.*, 2021))

Néanmoins, il en ressort une action antibactérienne notoire de l'extrait de grenade et présente contre tous les pathogènes testés. Il apparaît nécessaire d'étudier cette efficacité à d'autres concentrations, sur de plus grands échantillons et notamment par des essais *in vivo*.

En effet, Mallya *et al.* ont montré l'efficacité et l'action synergique *in vitro* de la grenade combinée à d'autres solutions d'irrigation endodontique telles que l'hypochlorite de sodium et la chlorhexidine pour agir contre *Enterococcus faecalis* (Mallya *et al.* 2019). Les irrigants canaux de référence pour désinfecter les canaux endodontiques étant l'hypochlorite de sodium et la digluconate de chlorhexidine, très efficaces contre *E. faecalis*, cette étude a comparé l'effet antimicrobien contre *E. faecalis* de l'extrait aqueux de grenade à 20%, seul et associé à l'hypochlorite de sodium 2,5% ainsi qu'à la chlorhexidine 0,2%, par le test de diffusion en gélose.

Table 1

Descriptive statistics of zone of inhibition of all the experimental irrigants with mean zone and standard deviation

Descriptive Statistics ^a					
Groups	Sample no.	Minimum	Maximum	Mean in mm	Std. Deviation
Pomegranate	n=40	18.60	19.20	18.8775	0.14230
Hypochlorite value	n=40	15.70	16.10	15.8950	0.11536
Chlorhexidine	n=40	19.50	19.62	19.5600	0.04368
POME + HYPO	n=40	23.87	23.93	23.9000	0.01754
POME + CHX	n=40	25.67	25.73	25.7000	0.01754
HYPO + CHX	n=40	19.55	19.63	19.6010	0.02540

Figure 40 : Moyennes des zones d'inhibition (en mm) contre *E. faecalis* de chaque groupe(Source : (Mallya *et al.*, 2019))

Au bout de 48h et selon la figure 8, on remarque que l'extrait de grenade utilisé seul est plus efficace que l'hypochlorite avec une zone d'inhibition plus grande (moyenne de 18,8775mm contre 15,8950mm respectivement), mais moins efficace que la chlorhexidine seule (moyenne de 19,56mm). Cependant les meilleurs résultats ont été obtenus par la combinaison grenade/chlorhexidine avec une moyenne de 25,7mm de façon significative par rapport aux autres combinaisons, suivi de la combinaison grenade/hypochlorite avec 23,9mm en moyenne. Cette activité antibactérienne synergique est attribuée aux tanins tels que la punicalagine de la grenade, qui inhibent l'enzyme glycosyltransférase en se liant à la paroi bactérienne *et* altèrent la dégradation des glucides. Afin de vérifier ce potentiel synergique des études *in vivo* doivent encore être mener.

La microdureté et la rugosité de surface de la dentine canalaire de dents humaines ont été analysées après irrigation au vinaigre de grenade dans l'étude de Akbulut *et al.* (Akbulut *et al.* 2019). Une activité bactéricide étant attribuée au vinaigre, son utilisation comme irrigant canalaire lors de traitement endodontique a fait l'objet de cette étude, en comparant les vinaigres de grenade, de raisin et de cidre au irrigants conventionnels, précisément l'hypochlorite de sodium 2,5%, le gluconate de chlorhexidine 0,2% et le chlorhydrate d'octénidine, un antiseptique à large spectre, pour évaluer leur effet au niveau de la surface dentinaire. La plus haute moyenne de rugosité après 15min d'irrigation est obtenue avec le vinaigre de grenade (avec

0,61±0,16), dont on note une légère diminution après 30min (avec 0,55±0,16) pour passer en seconde position derrière le vinaigre de raisin (avec 0,63±0,14). Les vinaigres ont tous permis une hausse de rugosité, certainement due à leur pH très acide, comparativement aux trois irrigants conventionnels et l'irrigant témoin d'eau distillée dont les valeurs sont similaires. Le temps de traitement n'a cependant pas eu d'impact significatif entre 15 et 30min.

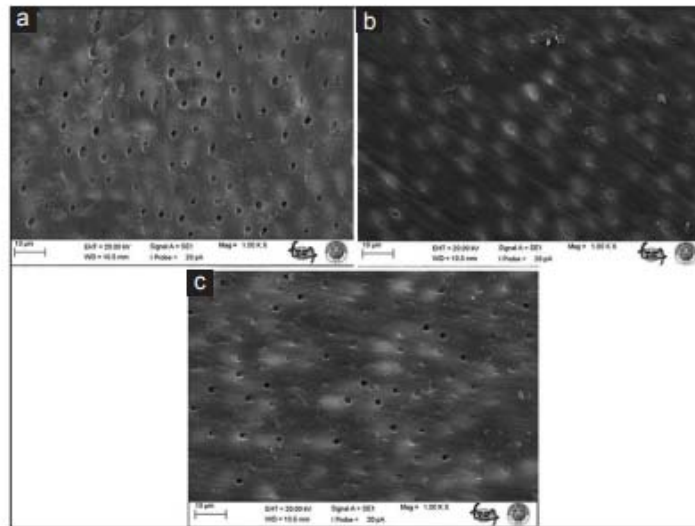


Figure 1: Scanning electron microscope micrographs showing different irrigation regimen's effect on dentin surfaces after 30 min; (a) Pomegranate vinegar, (b) Apple cider vinegar, (c) Grape vinegar (×1000)

Figure 41 : Coupes microscopiques de l'état de surface de dentine canalaire après 30min d'irrigation au vinaigre de grenade (a), au vinaigre de cidre (b) et au vinaigre de raisin (c) (grossissement x1000)

(Source : (Akbulut *et al.*, 2019))

Quant à la microdureté en revanche, un ramollissement dentinaire significatif entre 15 et 30min de traitement est notable avec chaque solution d'irrigation testée, la solution témoin comprise, bien que les valeurs de microdureté soient semblables entre chacune d'elles aux instants définis comme le montre la figure 10 ci-dessous.

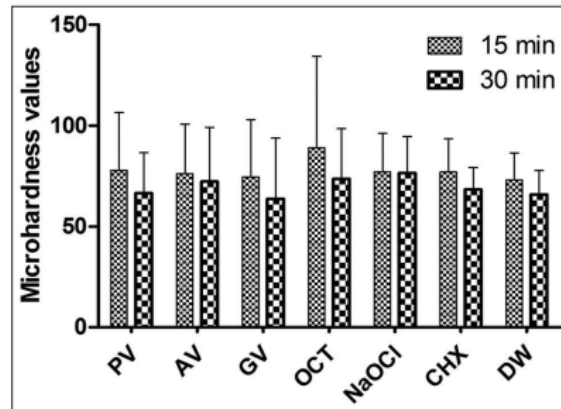


Figure 2: Microhardness values (means and standard deviations) of test and control groups. PV: Pomegranate vinegar, AV: Apple cider vinegar, GV: Grape vinegar, OCT: Octenidine hydrochloride, NaOCl: Sodium hypochlorite; CHX: Chlorhexidine gluconate, DW: Distilled water

Figure 42 : Moyennes de microdureté de la dentine canalaire après 15min et 30min d'irrigation avec chaque solution irrigante testée

(Source : (Akbulut *et al.*, 2019))

En effet la rugosité de la paroi canalaire permet l'adhésion micromécanique des matériaux d'obturation et une meilleure mouillabilité, bien qu'elle augmente le risque d'adhésion de biofilm bactérien. L'action chimique, c'est-à-dire antibactérienne, et mécanique, c'est-à-dire la mise en suspension des débris minéraux et organiques (appelé boue dentinaire ou *smear layer*), sont toutes deux nécessaires pour la réussite du traitement endodontique et recherchées dans les propriétés des solutions d'irrigation pour compléter la mise en forme canalaire. Cependant, la composition chimique de la surface dentinaire soumise aux solutions d'irrigation est à contrôler afin de mettre en place des matériaux d'obturation chimiquement adhérents et adaptés. Les coupes au microscope électronique à balayage des surfaces dentinaires montrent l'absence de *smear layer* et des tubuli dentinaires ouverts. La déminéralisation de la surface par les vinaigres acides a permis d'augmenter la rugosité, et la dissolution des tubules dentinaires, plus denses vers les canaux radiculaires avec une plus faible présence de dentinaire péri-tubulaire, a permis le ramollissement de la surface dentinaire.

❖ Milieu de conservation

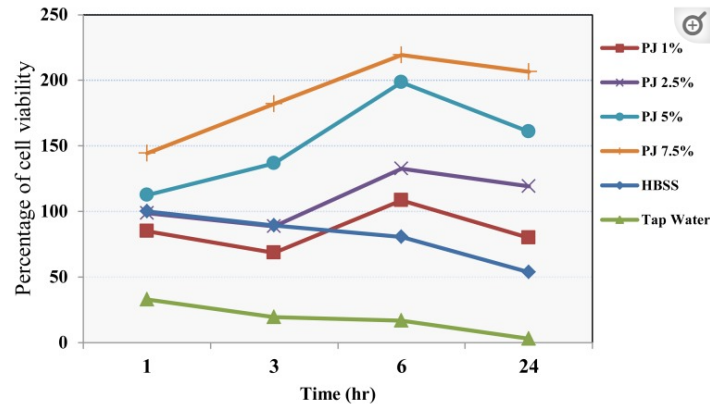
Au vu des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes de ses composés bioactifs, l'extrait de grenade pourrait présenter un milieu de stockage pour les dents avulsées/expulsées en instance de réimplantation.

En effet, les tanins contenus dans le jus de grenade, particulièrement la punicalagine et l'acide ellagique, présentent une activité anti-collagénase et anti-élastase qui favorise la fixation cellulaire, par inhibition des enzymes α -sécrétase (TACE), β -sécrétase (BACE1), l'élastase, la trypsine et la chymotrypsine (Thring *et al.* 2009). De plus, on leur confère un potentiel prolifératif et de maintien de la viabilité cellulaire, mis en évidence dans l'étude de Tavassoli-Hojjati *et al.* (Tavassoli-Hojjati *et al.* 2014).

Après expulsion de la dent lors d'un traumatisme, la durée estimée avant nécrose totale des cellules du ligament alvéolo-dentaire restantes au niveau de la surface radiculaire est de deux heures lorsque la dent se dessèche. Le temps suivant l'expulsion de la dent de son alvéole et le milieu de transport sont des facteurs décisifs pour procéder à une réimplantation dentaire immédiate, la meilleure solution thérapeutique de réhabilitation. Pour cela, la viabilité des cellules desmodontales ainsi que leur aptitude mitogénique et clonogénique, sont primordiales car leur altération est à l'origine de nombreux échecs à long terme, entraînant des ankyloses ou des résorptions radiculaires. Les fibroblastes du ligament alvéolo-dentaire constituent des cellules majoritaires permettant le rattachement à l'alvéole lors de la réimplantation dentaire. Les milieux de stockage recommandés pour conserver la vitalité des cellules desmodontales des dents avulsées sont la solution saline équilibrée de Hank (HBSS), le sérum physiologique, la salive ou encore le lait.

En analysant des cultures de cellules desmodontales humaines soumises au jus de grenade à différentes concentrations, Tavassoli-Hojjati *et al.* ont constaté que la morphologie cellulaire est restée intacte par analyse microscopique, comme avec la solution HBSS, et que la concentration du jus à 7,5% a révélé le meilleur pourcentage de survie cellulaire à 1, 3, 6 et 24 heures, avec un effet maximal à 6 heures (144,34% de viabilité à 1 heure et 206,68% à 24 heures, par rapport au milieu HBSS permettant 100,00% de viabilité à 1 heure et 53,58% à 24 heures).

Fig 2.



Periodontal ligament cell viability in the tested media at various time intervals

Figure 43 : Moyennes de pourcentage de la viabilité cellulaire avec le jus de grenade aux différentes concentrations (1%, 2,5%, 5% et 7,5%), avec le milieu HBSS à 1%, et avec l'eau du robinet, à 1, 3, 6 et 24 heures

(Source : (Tavassoli-Hojjati *et al.*, 2014))

En prenant compte de toutes les concentrations testées, le jus de grenade a permis une augmentation probante de la survie cellulaire entre 1 heure et 6 heures parallèlement à l'augmentation des concentrations, mettant en évidence le potentiel prolifératif de la grenade, bien qu'une diminution générale soit constatée entre 6 et 24 heures.

En raison de la difficulté d'accès et le coût du milieu de stockage artificiel qu'est la solution HBSS, recommandé par l'Association internationale de traumatologie dentaire, après la survenue d'un traumatisme, et de l'efficacité limitée de conservation de la salive et du lait à court terme, l'utilisation du jus de grenade peut s'avérer être une bonne alternative comme milieux de stockage, naturel et facile d'accès, bien que d'autres études *in vivo* soient nécessaires.

Le faible taux de bactéries, un pH neutre (entre 6,6 et 7,8), une osmolarité physiologique (230 à 400mosm/L), la présence de nutriments essentiels et le maintien de la viabilité cellulaire sont les critères retenus d'un milieu de stockage optimal (Babaji *et al.* 2017). Dans l'étude de Babaji *et al.* comparant l'efficacité de la propolis, la grenade, l'*aloe vera*, la HBSS, la collagénase dispase II (témoin positif) comme milieu de stockage de prémolaires humaines avec le dessèchement à l'air libre (témoin négatif), tous les milieux testés ont présenté une viabilité significativement plus élevée des cellules desmodontales que le témoin négatif, avec pour ordre d'efficacité : témoin négatif < jus de grenade < *Aloe vera* < HBSS < propolis témoin positif. En accord avec

les résultats de l'étude Tavassoli-Hojjati *et al.* vue précédemment, Babaji *et al.* confirment le rôle conservateur du jus de grenade pour les dents avulsées, bien qu'il ait présenté une moyenne plus faible de cellules viables par rapport à la moyenne de la solution HBSS (214 000 cellules et 262 000 respectivement), néanmoins bien supérieure à la moyenne de la culture laissée à l'air libre (2 000 cellules), et avec une osmolarité et un pH convenable pour un milieu de conservation idéal (280 mosm/L et pH à 6,7).

Tableau 3 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en odontologie conservatrice

Auteur, date, référence	Objectif de l'étude	Méthodes	Résultats	Conclusion
Suratno <i>et al.</i> , 2021	Évaluer la capacité antioxydante de la grenade et ses composants sur les surfaces dentaires suite à un éclaircissement au peroxyde d'hydrogène à 40%, afin d'augmenter la résistance au cisaillement des restaurations à la résine composite	Comparaison des capacités de résistance de restaurations adhésives sur 32 prémolaires préalablement éclaircies au peroxyde d'hydrogène, puis exposées à des gels d'extrait de grenade à 5% et 10%, un gel d'acide ascorbique à 10% et un groupe contrôle sans gel. Tests de cisaillement réalisés par une machine d'essai universelle (UTM).	La résistance moyenne au cisaillement est meilleure dans le groupe des dents exposées au gel de grenade concentré à 10%, avec pour résultats : <ul style="list-style-type: none"> • 42,50 Mpa avec le gel de grenade à 10%, • 11,56 Mpa avec le gel de grenade à 5%, • 15,31 Mpa avec le gel d'acide ascorbique à 10%, • 4,50 Mpa dans le groupe contrôle négatif non exposé. 	Efficacité de la grenade égale voire meilleure que l'acide ascorbique en tant qu'agent antioxydant pour augmenter la résistance des restaurations adhésives sur dents traitées au peroxyde d'hydrogène.
Nirwana <i>et al.</i> , 2017	Effet de la grenade utilisée en matériau de coiffage pulpaire direct suite à un traumatisme mécanique, en comparaison avec l'hydroxyde de calcium et un gel placebo	Comparaison de l'expression du facteur de transcription NF-κB au niveau de la pulpe exposée, recouverte soit par un gel placebo (groupe A), soit par de l'hydroxyde de calcium (groupe B), soit par un gel de grenade (groupe C), sur 18 rongeurs	Plus faible niveau d'expression de NF-κB dans la pulpe exposée et coiffée avec le gel de grenade à 2,5% par rapport au coiffage avec le gel placebo et le coiffage avec l'hydroxyde de calcium, avec différence significative entre les groupes ($p < 0,05$) (Cf. Figure 6)	Grenade efficace en coiffage pulpaire direct pour diminuer l'expression du facteur clé responsable de la réponse inflammatoire, comparativement à l'hydroxyde de calcium
Sisodiya <i>et al.</i> , 2021	Évaluer <i>in vitro</i> l'efficacité de la grenade comme solution désinfectante contre trois pathogènes du système canalaire pour le traitement endodontique, en comparaison avec l'hypochlorite de sodium, la chlorhexidine et d'autres plantes médicinales	Comparaison sur 40 échantillons de la zone d'inhibition et de la CMI grâce au test de diffusion en gélose de l'extrait aqueux de grenade à 20%, de l'hypochlorite à 2,5%, de la chlorhexidine à 0,2%, de l'extrait de Myrrhe et de Tulsi, contre les pathogènes <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	<p>❖ Zone d'inhibition : extrait de grenade arrive en 4^e position concernant l'efficacité contre <i>E. faecalis</i>, en 5^e position contre <i>F. nucleatum</i> et <i>S. epidermidis</i>.</p> <p>❖ CMI : 5^e position pour extrait de grenade pour les 3 pathogènes</p> <p>Plus grande efficacité pour hypochlorite de sodium suivie de chlorhexidine. (Cf. Figure 7)</p>	Grenade efficace mais pas autant que l'hypochlorite de sodium et chlorhexidine pour contrer <i>in vitro</i> les pathogènes du système endo-canalaire

Mallya et al., 2019	Efficacité <i>in vitro</i> d'extrait de grenade à 20% seul ou en association avec la chlorhexidine 0,2% et l'hypochlorite de sodium 2,5% contre <i>Enterococcus faecalis</i>	Comparaison d'efficacité antibactérienne contre <i>E. faecalis</i> d'extrait de grenade seul et en association avec la chlorhexidine ou l'hypochlorite de sodium par test de diffusion en gélose	Plus grande zone d'inhibition avec la combinaison extrait de grenade/chlorhexidine, suivi de la combinaison extrait de grenade/hypochlorite de sodium : meilleure efficacité que toutes les solutions utilisées seules ($p < 0,05$). (Cf. Figure 8)	Grenade très efficace associée à la chlorhexidine comme solution d'irrigation canalaire pour contrer <i>Enterococcus faecalis in vitro</i>
Akbulut et al., 2019	Effet <i>in vitro</i> du vinaigre de grenade sur la microdureté et rugosité dentinaire des canaux endodontiques comparé à la chlorhexidine, à l'hypochlorite de sodium, au chlorhydrate d'octénidine et au vinaigre de raisin et de cidre de pomme.	Comparaison de la rugosité de surface et de la microdureté dentinaire sur 105 incisives mandibulaires humaines irriguées par les différents types de vinaigres, trois irrigants communs et un irrigant témoin, après 15min puis 30min de traitement	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Les valeurs de rugosité sont plus élevées pour les vinaigres que les autres irrigants, la meilleure moyenne étant attribuée au vinaigre de grenade ❖ Pas de différence significative au niveau de la microdureté dentinaire entre les solutions testées, mais diminution de microdureté à 30min (Cf. Figure 10) 	Vinaigre de grenade efficace solution d'irrigation pour augmenter la rugosité de la dentine canalaire et ramollir la dentine dans le temps
Tavassoli-Hojjati et al., 2014	Evaluer <i>in vitro</i> la capacité du jus de grenade à conserver les dents avulsées, en tant que milieu de stockage naturel	Comparaison de la viabilité des cellules fibroblastiques humaines du ligament desmodontal de prémolaires cultivées, soumises au jus de grenade aux concentrations de 1%, 2,5%, 5% et 7,5%, soumises au milieu HBSS à 1% et à l'eau du robinet, pendant 1,3,6 et 24 heures	Jus de grenade concentré à 7,5% est la meilleure solution de stockage des dents pour conserver la viabilité cellulaire, objectivant des pourcentages de viabilité les plus hauts à chaque intervalle de temps ($p < 0,05$) Augmentation de la viabilité cellulaire avec l'augmentation de la concentration du jus de grenade. (Cf. Figure 11)	Jus de grenade efficace comme milieu de stockage de dents avulsées
Babaji et al., 2017	Efficacité de la grenade comme milieu de conservation de dents avulsées en comparaison avec la propolis, l' <i>aloe vera</i> et la HBSS.	Comparaison de la viabilité des cellules desmodontales sur 50 dents saines extraites et immergées dans des milieux différents par rapport à l'air libre (témoin négatif) : solution de HBSS, de propolis, d' <i>Aloe vera</i> , de grenade, de collagénase dispase II (témoin positif)	Jus de grenade présente un milieu au pH et à l'osmolarité adaptés, avec une viabilité de cellules desmodontales probante bien supérieure au témoin négatif, bien que moins efficace par rapport à la solution HBSS et les autres substances testées.	Jus de grenade moins efficace que solution HBSS mais adaptée en tant que milieu de conservation de dents extraites

2.2.4. Parodontologie

❖ Parodontite

En cas de maladie parodontale, il est décrit un taux de protéines totales salivaires anormalement élevé, associé à la prévalence bactérienne et à l'inflammation. Or, des études démontrent que des bains de bouches à base de grenade peuvent provoquer une diminution du taux de protéines présentes dans la salive chez des patients sujets aux gingivites, avec une activité potentialisée de la cérulosplamine (une enzyme antioxydante), une inhibition de l'activité hydrolysante de l' α -glucosidase (enzyme qui libère le glucose dans la salive), ainsi qu'une inhibition de l'activité de l'aspartate aminotransférase (enzyme active dans la destruction tissulaire et révélatrice de l'activité de la parodontite) (Bhadbhade *et al.* 2011; Umar *et al.* 2016). Ces propriétés renforcent le potentiel anti-cariogène et protecteur de la grenade contre la maladie parodontale.

L'élimination mécanique de la plaque dentaire par le brossage au niveau des surfaces dentaires et de la gencive libre est un impératif majeur dans le traitement de la maladie parodontale. Seulement le contrôle de plaque n'est pas toujours efficace ou correctement réalisé. Pour le parfaire, des produits chimiques sont couramment utilisés, tels que des bains de bouches antiseptiques, des antibiotiques oraux ou des systèmes d'administration locale de médicaments. Les méthodes adjuvantes au niveau locales sont intéressantes pour éviter les répercussions des agents thérapeutiques d'administration systémiques (résistances aux antibiotiques, troubles gastro-intestinaux, allergies et toxicité médicamenteuse). L'irrigation sous-gingivale et l'utilisation de gels ou de fibres, à base de produits chimiques antiseptiques comme le digluconate de chlorhexidine, sont des systèmes d'administration locale de médicament le plus communément utilisés et efficaces pour améliorer la santé parodontale lorsqu'elles sont associées au surfaçage, mais ils peuvent avoir des effets indésirables. L'intérêt des composés naturels issus des plantes est donc de pallier à ces effets. Des effets bénéfiques significatifs du curcuma ou encore du menthol sur la santé gingivale ont été décrits lors de leur emploi dans l'irrigation sous-gingivale (Tyagi *et al.* 2021).

Une étude menée par Tyagi *et al.* sur le traitement non chirurgical de la maladie parodontale a relevé une amélioration de la santé parodontale par l'utilisation de la grenade chez des adultes présentant des poches parodontales d'au moins 4mm de profondeur (Tyagi *et al.* 2021). Cette efficacité a été testée suite à un détartrage et surfaçage radiculaire sur trente patients, puis en appliquant dans le premier groupe des copeaux médicamenteux sous-gingivaux à base d'écorce de grenade, ainsi qu'un gel à base d'écorce de grenade concentré à 10% dans le deuxième groupe, en comparaison à un groupe contrôle de patients ayant seulement été traité par détartrage et surfaçage.



Figure 2: Placement of Punica granatum chip at surgical site

Figure 44: application d'un copeau à base d'extrait de grenade après surfaçage

(Source : (Tyagi *et al.*, 2021))



Figure 3: Placement of Punica granatum gel at surgical site

Figure 45: application du gel à base d'extrait de grenade après surfaçage

(Source : (Tyagi *et al.*, 2021))

En analysant l'indice de plaque, l'indice gingival, la profondeur de poche au sondage et le niveau d'attachement clinique avant application (J0) puis au 21^e jour (J21) et au 45^e jour (J45) dans chacun des groupes, il a été constaté que les copeaux et le gel à

base de grenade ont permis une amélioration des résultats dès J21. Concernant le niveau de l'attache clinique gingivale, les résultats révèlent une amélioration plus significative avec les copeaux et le gel de grenade par rapport au groupe contrôle entre J0 et J21, et entre J0 et J45 (avec $p < 0,001$). Le groupe contrôle n'obtient un meilleur niveau d'attache clinique de manière significative qu'à J45 (Cf Figure 6). On observe en revanche que les trois groupes présentent un score d'indice gingival et une profondeur de poche significativement meilleurs à J21 et J45, avec une amélioration notable de la profondeur de poche par les copeaux entre J21 et J45.

Table 1: Intra and Inter group comparison of measured parameters with statistical significance

Parameter and group (n=10)	Intra group comparison					
	Day			P (significant when $P \leq 0.05$)		
	Baseline	Day 21	Day 45	Baseline to day 21	Baseline to day 45	Day 21 to 45
Plaque Index score						
Group-1 (chip)	2.00±0.47	1.30±0.48	1.40±0.70	0.029	0.072	1.000
Group-2 (gel)	1.70±0.48	1.30±0.48	1.10±0.32	0.148	0.014	0.938
Group-3 (control)	2.00±0.47	1.40±0.52	1.20±0.42	0.025	0.002	1.000
Gingival Index score						
Group-1 (chip)	1.80±0.42	0.90±0.32	0.70±0.48	<0.001	<0.001	0.865
Group-2 (gel)	1.60±0.52	0.90±0.32	0.60±0.52	0.006	<0.001	0.467
Group-3 (control)	1.90±0.32	1.10±0.32	0.90±0.32	<0.001	<0.001	0.506
Probing pocket depth in millimetres						
Group-1 (chip)	5.40±0.52	4.20±0.79	3.40±0.70	0.001	<0.001	0.041
Group-2 (gel)	5.00±0.00	3.90±0.32	3.70±0.48	<0.001	<0.001	0.573
Group-3 (control)	5.20±0.42	4.40±0.52	3.90±0.74	0.013	<0.001	0.186
Relative attachment Level in millimeters						
Group-1 (chip)	10.70±0.82	9.50±1.08	8.70±0.95	0.028	<0.001	0.217
Group-2 (gel)	10.00±0.47	8.90±0.57	8.70±0.82	0.002	<0.001	1.000
Group-3 (control)	9.50±0.97	8.60±1.27	8.10±1.10	0.250	0.028	0.980

Figure 46 : Valeurs moyennes des paramètres cliniques obtenues dans les trois groupes après surfaçage et application de médication locale chez des patients atteints de parodontite chronique

(Source : (Tyagi *et al.*, 2021))

Une diminution de l'indice de plaque est significativement remarquable dans le groupe exposé au copeau de grenade à J21, ainsi que dans le groupe exposé au gel à J45, et dans le groupe contrôle à J21 et J45.

La différence des scores d'indice de plaque entre l'application de médication à la grenade et l'abstention de médication ne s'est pas révélée pertinente. La réduction de l'indice gingival dans les trois groupes est permise par le traitement de surfaçage, mais aussi potentiellement par le pouvoir anti-inflammatoire des composants de la grenade, qui peuvent immuno-réguler les macrophages et les lymphocytes T et B.

Cette étude souligne donc l'intérêt que peut présenter la grenade contenue dans des copeaux et gels sous-gingivaux en adjuvant au débridement mécanique pour traiter les parodontites chronique, afin d'améliorer particulièrement le niveau d'attachement

clinique. Les copeaux à base de grenade semblent être plus efficaces pour réduire le niveau d'attache clinique et améliorer la profondeur de poche, alors que le gel offre des résultats sensiblement similaires aux copeaux concernant l'indice gingival et l'indice de plaque.

Si les résultats des indices de plaque, gingival et de profondeur de poche semblent peu pertinents vis-à-vis d'une abstention de médication, Howell et D'Souza décrivent au contraire, à travers une étude, une amélioration notoire de l'indice de plaque, de l'adhésion bactérienne et de la profondeur de poche à trois mois par l'application sous-gingivale de copeaux biodégradables d'extrait de grenade dans les poches parodontales (de 5 à 8mm) des sujets par rapport à des copeaux placebo, avec une baisse du marqueur de l'inflammation IL-1 β à 3 et 6 mois, ceci en complément du débridement mécanique sus et sous-gingival (Howell et D'Souza, 2013).

Le pouvoir astringent des tanins peut contribuer à l'amélioration des poches parodontales, associé à l'activité antibactérienne, anti-inflammatoire et antioxydante.

❖ Gingivite

L'action anti-inflammatoire, astringente et hémostatique de la grenade s'avèrent bénéfique pour apaiser la gingivite chronique, dont l'origine est principalement la présence de plaque dentaire et dont le diagnostic s'objective par l'écoulement d'un exsudat inflammatoire au niveau de la gencive libre inflammée et le saignement au sondage.

Des études *in-vivo* ont prouvé l'activité anti-inflammatoire et analgésique d'extrait d'écorce de grenade, en agissant sur la réduction de l'infiltration des leucocytes et en modifiant le taux de libération de cytokines pro-inflammatoires tels que l'interleukine IL- β et le facteur TNF- α (Mo *et al.* 2013).

L'étude d'Eltay *et al.* en 2021 a mis en évidence le potentiel anti-inflammatoire de la grenade et ses composants lorsqu'elle est utilisée en solution d'irrigation dans le cas de gingivite chronique (Eltay *et al.* 2021). En effet, le contrôle de plaque et le détartrage, nécessaires au traitement de la gingivite, peuvent s'accompagner d'irrigateur buccal ou d'application d'agent anti-inflammatoire et antimicrobien.

Eltay *et al.* ont donc testé l'activité anti-inflammatoire de la grenade en menant leur étude sur l'utilisation d'extrait de grenade en irrigateur par jet pulsé sur des patients présentant une gingivite chronique et effectuant un traitement parodontal non

chirurgical qui comprend un détartrage à J0, comparativement à l'utilisation d'un irrigateur d'eau distillée. L'irrigation supra-gingivale a été réalisée à J15 sur trente-deux patients répartis en deux groupes. La mesure de l'indice de plaque et de l'indice gingival et l'analyse du taux d'IL- β présents dans le fluide crévulaire gingival collectés sur les patients ont révélé une amélioration notable des résultats entre chaque intervalle de temps, entre J0 et J15, et de J15 à J30, et dans chacun des deux groupes. En revanche, les différences de scores obtenues entre les deux groupes ne sont quant à elles pas probantes, les résultats étant proches. Les mesures moyennes de PI dans le groupe utilisant le jet pulsé à l'extrait de grenade sont de 2,53 puis 1,07 et 0,27, à J0, J15 et J30 respectivement, contre des moyennes de PI dans le groupe témoin égales à 2,59, puis 1,35 et 0,35, avec $p \geq 0,05$. Les moyennes des mesures de GI dans le groupe expérimental sont de 2,47, puis 1,33 et 0,87, et égales à 2,35, puis 1,41 et 1,00 dans le groupe témoin, à J0, J15 et J30 respectivement, toujours avec $p \geq 0,05$. Si les indices parodontaux présentent une baisse manifeste des scores, les taux de cytokines pro-inflammatoires également, avec un taux moyen d'IL- β passant de 55,06 à 21,49 pg/mL en utilisant le jet pulsé avec grenade, et un taux variant de 44,61 à 17,87pg/mL avec le jet pulsé à l'eau distillée, entre J0 et J30 respectivement ($p \leq 0,05$).

Aucun effet indésirable n'a été relaté. En effet, la simple irrigation de la cavité buccale à l'eau a déjà été décrite comme une technique efficace en tant qu'adjuvant aux techniques d'hygiène quotidiennes dans l'étude de Cutler *et al.* pour apaiser l'inflammation : elle permet de faire chuter le taux de cytokines pro-inflammatoires (IL- β et prostaglandines PGE2) dans le fluide gingival crévulaire chez les adultes souffrant de parodontites, ce qui peut expliquer les résultats probants et en accord, observés dans le groupe témoin avec l'eau distillée par Eltay *et al.* (Cutler *et al.* 2000). Cette étude étant la seule portée sur l'utilisation de la grenade sous forme de solution d'irrigation pour jet pulsé, elle présente une limite d'analyse par manque de comparaison avec d'autres résultats. Des essais cliniques futurs pourraient étudier la concentration de solution idéale pour une utilisation optimale au long terme par les patients souffrant de gingivite chronique.

Les résultats obtenus dans la présente étude, indiquant une amélioration des indices parodontaux et une baisse des marqueurs de l'inflammation sans apparition d'effets indésirables, sont cohérents avec l'étude réalisée par Somu *et al.*

En 2012, ces derniers ont comparé les indices parodontaux sur quarante patients répartis en quatre groupes, présentant une gingivite chronique généralisée et effectuant sur 21 jours soit un débridement mécanique (détartrage et surfaçage radiculaire) et application d'un gel expérimental à la grenade sur les gencives (A), soit un débridement avec application de gel placebo (B), soit application du gel expérimental (C), soit application du gel placebo seul (D) (Somu *et al.* 2012).

Table 1: Plaque Index, Gingival Index, and Papillary Bleeding Index

Indices	Groups	Baseline	7 th day	14 th day	21 st day	Mean difference (SD) [Baseline –21st day]	P value
Plaque index	A	1.56 ± 0.31	0.35 ± 0.10	1.15 ± 0.30	1.16 ± 0.19	0.40 ± 0.33	0.004*
	B	1.59 ± 0.21	1.10 ± 0.14	1.13 ± 0.4	1.14 ± 0.09	0.45 ± 0.24	0.00*
	C	1.45 ± 0.25	1.38 ± 0.22	1.47 ± 0.16	1.37 ± 0.31	0.08 ± 0.27	0.36
	D	1.55 ± 0.25	1.52 ± 0.23	1.56 ± 0.23	1.64 ± 0.19	-0.08 ± 0.19	0.21
Gingival index	A	1.66 ± 0.23	1.09 ± 0.13	1.18 ± 0.13	1.17 ± 0.11	0.49 ± 0.17	0.000*
	B	1.39 ± 0.26	1.10 ± 0.19	1.09 ± 0.11	1.09 ± 0.06	0.31 ± 0.25	0.004*
	C	1.56 ± 0.21	1.51 ± 0.33	1.52 ± 0.33	1.57 ± 0.32	-0.01 ± 0.23	0.97
	D	1.58 ± 0.26	1.54 ± 0.28	1.40 ± 0.25	1.48 ± 0.21	0.10 ± 0.10	0.01*
Papillary bleeding index	A	1.54 ± 0.26	0.76 ± 0.25	0.89 ± 0.28	0.87 ± 0.25	0.67 ± 0.28	0.00**
	B	1.26 ± 0.34	1.00 ± 0.33	0.99 ± 0.27	1.07 ± 0.22	0.19 ± 0.27	0.048**
	C	1.25 ± 0.39	1.16 ± 0.40	1.23 ± 0.34	1.20 ± 0.32	0.05 ± 0.19	0.39
	D	1.26 ± 0.37	1.26 ± 0.29	1.33 ± 0.32	1.27 ± 0.34	-0.01 ± 0.19	0.83

*Statistically significant $P < 0.01$, ** Statistically significant $P < 0.05$, P values without asterisk (*) are not significant.

Figure 47 : Valeurs moyennes des indices parodontaux mesurés dans chaque groupe au départ, à 7, 14 puis 21 jours

(Source : (Somu *et al.*, 2012))

En effet, les résultats présentés dans la figure 9 montrent que seuls les groupes ayant réalisé le débridement mécanique et l'application des gels deux fois par jours ont permis une réduction significative des valeurs de l'indice de plaque, d'indice gingival et de l'indice de saignement papillaire. On peut tout de même souligner que l'effet anti-plaque du gel à la grenade (C) se révèle meilleur selon les résultats que celui du gel placebo (D). De plus, les plus faibles valeurs d'indice de saignement papillaire obtenues avec le gel de grenade (A) comparé au gel placebo (B) sont en accord avec l'étude de Pereira et Sampanio en 2003 qui a mis en évidence l'efficacité hémostatique de la grenade utilisée en dentifrice sur la gingivite.

Selon la figure 10 ci-dessous, l'analyse microbiologique a en revanche rapporté un effet antibactérien manifeste du gel à base de grenade utilisé seul ou en association avec le débridement mécanique, contre les Cocci et les Bacilles à Gram négatif, contrairement aux Cocci et Bacilles à Gram positif contre lesquelles aucun effet inhibiteur n'a été constaté.

Table 2: Gram Positive Cocci, Gram Positive Bacilli, Gram Negative Cocci and Gram Negative Bacilli

Microorganisms	Groups	Baseline	7 th day	14 th day	21 st day	Mean difference (SD) [Baseline –21st day]	P value
Gram Positive Cocci	A	2.5±0.5	2.6±0.5	3.0±0.5	3.1±0.3	0.6±0.5	0.014*
	B	2.5±0.5	2.6±0.5	2.8±0.6	2.8±0.6	0.3±0.4	0.014*
	C	2.7±0.5	2.7±0.8	3.3±0.7	3.4±0.5	0.7±0.7	0.08
	D	3.1±0.3	3.3±0.7	3.4±0.5	3.3±0.5	0.3±0.6	0.02*
Gram Positive Bacilli	A	2.5±0.5	2.6±0.5	2.8±0.4	3.0±0.5	-0.5±0.7	0.059
	B	2.7±0.7	2.5±0.5	2.6±0.7	2.5±0.7	0.2±0.6	0.32
	C	2.8±0.6	2.8±0.6	3.2±0.4	3.3±0.7	-0.5±0.7	0.059
	D	3.1±0.6	3.1±0.5	3.1±0.3	3.1±0.3	0.0±0.7	1.00
Gram Negative Cocci	A	2.9±0.6	2.4±0.5	2.1±0.3	2.0±0.5	0.9±0.6	0.007*
	B	2.8±0.6	3.2±0.6	3.1±0.6	3.0±0.5	0.2±0.4	0.157
	C	3.8±0.4	3.4±0.7	2.7±0.7	2.6±0.7	1.2±0.9	0.012*
	D	3.4±0.7	3.7±0.5	3.1±0.6	3.4±0.5	0.0±0.6	1.00
Gram Negative Bacilli	A	2.6±0.5	2.3±0.5	2.1±0.3	1.9±0.3	0.7±0.5	0.008*
	B	3.0±0.8	2.9±0.6	2.9±0.6	2.9±0.7	0.1±0.7	0.66
	C	3.5±0.7	3.0±0.7	2.7±0.7	2.6±0.7	1.2±0.9	0.012*
	D	3.4±0.7	3.7±0.5	3.1±0.6	3.4±0.5	0.0±0.6	1.00

* Statistically significant $P < 0.05$, P values without asterisk (*) are not significant.

Figure 48 : Valeurs de l'analyse microbiologique des prélèvements de plaque dentaire effectués dans chacun des groupes aux différents intervalles de temps

(Source : (Somu *et al.*, 2012))

Étant donné que seuls les groupes ayant réalisé le débridement mécanique ont obtenu une amélioration notable des indices cliniques parodontaux, il en ressort que la grenade utilisée sous forme de gel est efficace pour compléter le traitement non chirurgical de la gingivite chronique, bien qu'elle ait un pouvoir antimicrobien incontestable avec ou sans débridement associé. Elle peut s'avérer être une aide intéressante au contrôle de la gingivite, un agent chimio-thérapeutique naturel sans effets secondaires, afin de pallier à la mauvaise observance des patients concernant l'élimination de la plaque dentaire.

L'effet hémostatique de la grenade a notamment été mise en évidence par Ahuja *et al.* dans leur étude en comparant l'effet de la grenade en bain de bouche à celui de la chlorhexidine sur l'inflammation gingivale chronique (Ahuja *et al.* 2011). En comparant les résultats au départ, au 7^e et 15^e jour, ils ont mis en exergue l'amélioration significative ($p \leq 0,05$) des scores d'indice gingival, d'indice de plaque et de saignement au sondage dans les deux groupes. Cependant, l'efficacité du rinçage à la grenade est supérieure concernant l'indice gingival et en particulier le saignement au sondage, en passant d'un indice BOP de 0,77 à 0,26 en sept jours, et de 0,77 à 0,14 en quinze jours de traitement. Mais concernant l'indice de plaque, la solution de grenade apparaît

moins efficace par rapport à la chlorhexidine, comme le montrent les figures ci-dessous.

Figure 2: Comparison of plaque index between *Punica granatum* and chlorhexidine mouthwash within 15 days

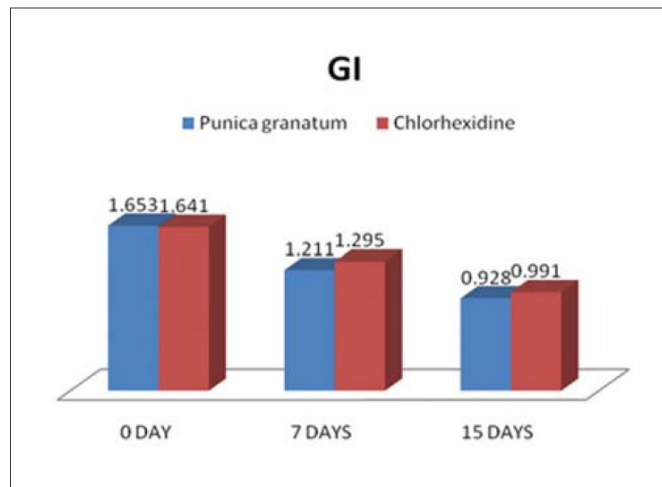


Figure 49 : Résultats de l'indice gingival obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15

(Source : (Ahuja *et al.*, 2011))

Figure 3: Comparison of gingival index between *Punica granatum* and chlorhexidine mouthwash within 15 days

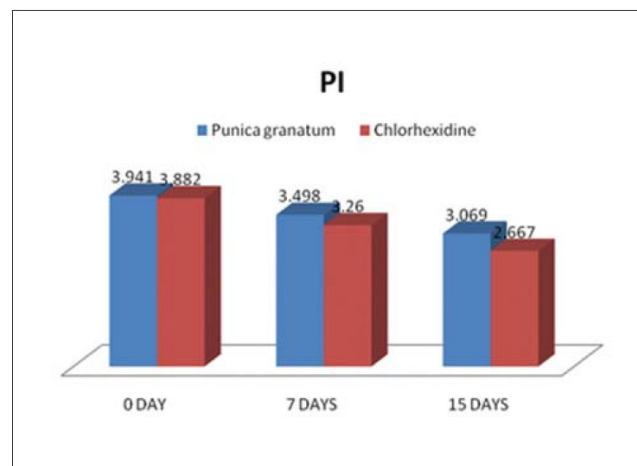


Figure 50 : Résultats de l'indice de plaque obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15

(Source : (Ahuja *et al.*, 2011))

Figure 4: Comparison of bleeding on probing between *Punica granatum* and chlorhexidine mouthwash within 15 days

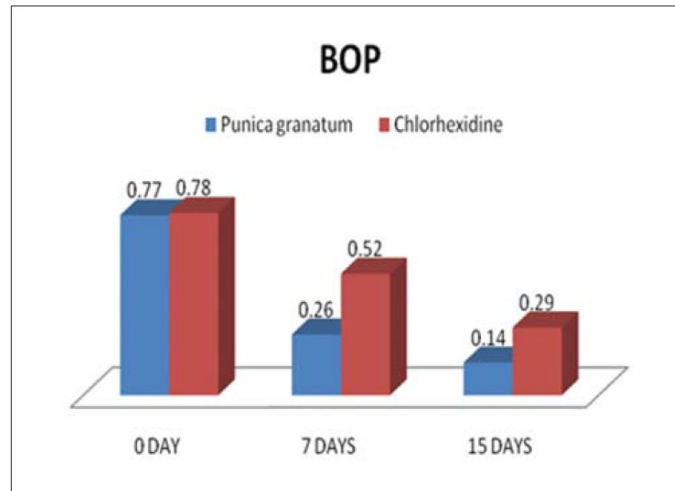


Figure 51 : Résultats d'indice de saignement au sondage obtenus avec le bain de bouche à la grenade par rapport à celui de la chlorhexidine à J0, J7 et J15

(Source : (Ahuja *et al.*, 2011))

L'effet anti-plaque de la grenade reste tout de même remarquable, bien que cette étude mette surtout en évidence son action astringente et hémostatique, permettant de réduire le saignement au sondage et de contrôler l'inflammation gingivale.

Les propriétés anti-inflammatoires et anti-plaques de la grenade ont aussi été mise en évidence sur des sujets diabétiques (Sedigh-Rahimabadi *et al.* 2017). La gingivite est la maladie parodontale la plus commune, observée dans la majorité de la population, particulièrement dans les pays en développement. Des facteurs de risque autres que la plaque dentaire peuvent favoriser son évolution vers la parodontite, tels que la consommation de tabac, l'hygiène orale, un déséquilibre hormonal, un déficit immunitaire, la prise de certains médicaments ou encore le diabète. En effet, un diabète déséquilibré entretient l'inflammation gingivale et parodontale, et réciproquement.

Sedigh-Rahimabadi *et al.* ont analysé les résultats d'un traitement par un bain de bouche à l'extrait de fleur de grenade nommé Golnar, traditionnellement utilisé dans la médecine perse contre la gingivite, utilisé pendant deux semaines à raison d'une fois par jour sur des patients atteints de diabète de type 2, au taux d'hémoglobine glyquée à 7%, et présentant une gingivite. Une évaluation à deux semaines des paramètres cliniques a été effectuée, un détartrage a ensuite été réalisé ainsi qu'une deuxième évaluation après deux autres semaines avec arrêt de bain de bouche. Les résultats, présentés dans la figure ci-dessous, ont montré une nette amélioration du

pourcentage de saignement gingival au bout de deux semaines de traitement par les deux bains de bouche, ainsi qu'une amélioration significative des taux d'indices gingival, de plaque et de profondeur de poche au sondage, très semblable entre les deux solutions si bien qu'il n'y pas de différence notable, mise à part une amélioration supérieure de l'indice gingival avec l'extrait de grenade.

Table 3. The Differences of Primary and Secondary Outcome Measures Between 2 Intervention Groups (n = 70).

Parameter	Time	Group		Difference	95% CI		P Value
		Chlorhexidine (n = 34)	Golnaar (n = 36)		Lower	Upper	
GBI (%)	Baseline	13.3 ± 9.72	14.76 ± 12.25	-1.46	-6.38	3.46	.874 ^a
	After 2W	3.87 ± 5.7	3.42 ± 5.63	0.45	-2.08	2.97	.228 ^b
	P-Within ^c	<.001	<.001				
	After 4W	0.96 ± 3.39	1.62 ± 2.98	-0.66	-2.08	0.76	.483 ^b
P-Within ^c	<.001	<.001					
MGI	Baseline	1.29 ± 1.03	1.26 ± 0.89	0.03	-0.40	0.46	.988 ^a
	After 2W	0.38 ± 0.64	0.17 ± 0.36	0.21	-0.03	0.45	.039 ^b
	P-Within ^c	<.001	<.001				
	After 4W	0.09 ± 0.26	0.04 ± 0.08	0.05	-0.04	0.14	.377 ^b
P-Within ^c	<.001	<.001					
PD	Baseline	1.34 ± 0.84	1.59 ± 1.12	-0.25	-0.69	0.19	.408 ^a
	After 2W	0.85 ± 0.68	0.84 ± 0.76	0.01	-0.31	0.33	.273 ^b
	P-Within ^c	<.001	<.001				
	After 4W	0.58 ± 0.57	0.62 ± 0.66	-0.04	-0.32	0.23	.666 ^b
P-Within ^c	<.001	<.001					
PI	Baseline	2.34 ± 0.88	2.47 ± 0.59	-0.12	-0.46	0.21	.469 ^d
	After 2W	1.92 ± 1.02	1.97 ± 0.67	-0.05	-0.43	0.34	.951 ^b
	P-Within ^e	<.001	<.001				
	After 4W	0.23 ± 0.2	0.24 ± 0.14	-0.01	-0.08	0.07	.973 ^b
P-Within ^e	<.001	<.001					

Abbreviations: CI, confidence interval; GBI, gingival bleeding index; MGI, mean gingival index; PD, pocket depth; PI, plaque index; Pre, at the starting of the study; After 2W, 2 weeks after using mouthrinse; After 4W, 4 weeks after starting the study (end point of the study).

^aBased on Mann-Whitney test.

^bAdjusted for the baseline, based on analysis of covariance.

^cBased on Wilcoxon signed rank test.

^dBased on t test.

^eBased on paired t test.

Figure 52 : Moyennes de l'indice de plaque, gingival, de saignement au sondage et de profondeur de poche après 2 et après 4 semaines de traitement à la chlorhexidine et de solution à l'extrait de grenade

(Source : (Sedigh-Rahimabadi *et al.*, 2017))

L'amélioration des résultats est toujours notable quatre semaines après le détartrage. En revanche, l'enquête réalisée à l'aide de l'échelle analogique visuelle a fait part d'une meilleure satisfaction des patients pour l'extrait de grenade par rapport à la chlorhexidine (94,7% et 88,9% respectivement) ainsi qu'une meilleure tolérance (97,4% et 83,3% respectivement), même si la différence n'est pas significative, avec une coloration des dents et un goût amer par la chlorhexidine et un goût plus âcre avec la solution d'extrait de grenade. Bien que l'efficacité et la sûreté de l'extrait de grenade

aient été démontrées, les limites de cette étude, dont la faible taille de l'échantillon, le court terme et l'absence de groupe placebo, amènent à la nécessité d'effectuer d'autres études pour garantir l'efficacité et l'utilité d'un bain de bouche à l'extrait de grenade dans le traitement de la gingivite, notamment chez les patients diabétiques.

L'effet anti-inflammatoire de la grenade a également été mis en évidence dans l'étude de Prakash *et al.*, menée sur des patients ayant stoppé le brossage mécanique durant la phase de traitement protocolaire et appliquant un gel expérimental à raison de deux fois par jour (Prakash *et al.* 2017). Mis à part la profondeur au sondage, les autres paramètres cliniques (indice gingival, indice de plaque et saignement au sondage) ont significativement moins augmenté après quatorze jours de simple traitement au gel de grenade, comparé au traitement avec le gel de chlorhexidine, le gel d'ornidazole/chlorhexidine et le gel placebo. La faible différence de taux d'interleukines IL-1 β et IL-8 et de cytokines CCL28 entre le départ du traitement et le 14^e jour avec l'utilisation de gel de grenade est éloquent par rapport aux autres gels, avec lesquels on note une forte augmentation des taux en l'absence de brossage mécanique (Figure 20). Ces résultats associés au retour à la norme des scores des paramètres cliniques au 60^e jour, après la reprise des procédures d'hygiène mécanique, souligne la nécessité du contrôle de plaque et de l'inflammation gingivale par le brossage mécanique et la complémentarité au traitement que peut apporter le gel de grenade avec ses propriétés anti-inflammatoires remarquables.

Cytokine	Group	Baseline	14 days	Difference	p-value
IL-1 β	I	21.41 \pm 5.21	35.28 \pm 15.71	13.88 \pm 8.87	0.003*
	II	19.93 \pm 7.27	87.24 \pm 15.42	67.55 \pm 8.81	<0.001**
	III	28.64 \pm 7.40	48.25 \pm 11.24	19.63 \pm 15.96	<0.001**
	IV	29.45 \pm 9.28	105.54 \pm 41.67	76.21 \pm 38.87	<0.001**
IL-8	I	34.23 \pm 23.31	41.92 \pm 17.21	7.68 \pm 8.23	0.002*
	II	47.84 \pm 45.37	98.21 \pm 23.73	50.37 \pm 19.25	<0.001**
	III	31.21 \pm 26.45	63.59 \pm 32.54	32.35 \pm 12.47	<0.001**
	IV	39.54 \pm 19.98	126.85 \pm 22.05	87.31 \pm 11.36	<0.001**
CCL28	I	73.35 \pm 9.65	80.59 \pm 16.94	7.12 \pm 8.78	0.15
	II	75.28 \pm 19.27	112.68 \pm 18.30	37.15 \pm 12.82	<0.001**
	III	80.58 \pm 12.28	93.64 \pm 25.90	13.41 \pm 10.68	0.02*
	IV	79.25 \pm 11.27	139.36 \pm 24.10	60.13 \pm 9.83	<0.001**

[Table/Fig-5]: Intragroup comparison of cytokines levels from baseline to 14 days. p-value calculated using paired t test.
*statistically significant; ** statistically very significant.
I= pomegranate group; II= chlorhexidine group; III= chlorhexidine-ornidazole group; Group IV= placebo.

Figure 53 : Taux moyens de cytokines dans le fluide crévicaire gingival calculés dans le groupe utilisant le gel de grenade (I), de chlorhexidine (II), d'ornidazole/chlorhexidine (III) et le gel placebo (IV), au départ et après 14 jours de traitement

(Source : (Prakash *et al.*, 2017))

Dans leur article de revue, Prasad et Kunnaiah décrivent les propriétés thérapeutiques des composants de la grenade utiles dans la prise en charge de la maladie parodontale (Prasad et Kunnaiah 2014). En effet, l'inflammation gingivale s'installe avec une production accrue de médiateurs de l'inflammation et de cytokines (particulièrement le facteur de nécrose tumorale TNF- α , les interleukines IL-1 β et IL-6 et les prostaglandines PGE2). Cette hausse de production au niveau gingival s'effectue en réaction au biofilm bactérien, et déclenche la stimulation de métalloprotéinases matricielles lorsqu'elle n'est pas stoppée. Ces enzymes vont progressivement altérer la matrice extracellulaire et l'os sous-jacent, entraînant alors la parodontite. L'ostéoclastogénèse, ou destruction osseuse, et la réponse inflammatoire sont également stimulées par la présence d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces ROS sont activateurs des facteurs de transcription nucléaires, dont ceux des facteurs nucléaires NF-Kb ou la protéine AP-1 qui boostent la libération de médiateurs inflammatoires et la dégradation osseuse.

Or, la propriété anti-inflammatoire de la grenade a été étudiée et supposée prometteuse pour jouer un rôle dans le traitement de l'inflammation gingivale et parodontale. Plusieurs effets anti-inflammatoires ont été rapportés, tels que :

- Une diminution des prostaglandines PGE2 causée par l'acide punicoïque (acide gras de la grenade) ;
- Inhibition des cyclooxygénases COX-1 et COX-2 et des lipoxygénases, enzymes à l'origine des médiateurs de l'inflammation ;
- Inhibition des interleukines IL-1 β et des métalloprotéinases matricielles induites : il en résulte une inhibition de la dégradation des tissus ;
- Immunorégulation potentielle des lymphocytes T et B et des macrophages ;
- Inhibition du facteur de nécrose tumorale NF-kB par l'acide ellagique, de la cascade des protéines kinases ERK-1 et ERK-2, de l'oxyde nitrique NO.

L'inhibition de ces facteurs primordiaux dans les voies de l'inflammation apparaît comme une stratégie très intéressante à explorer pour la prévention et le traitement de la maladie parodontale.

Par ailleurs, les composants de la grenade et leur capacité antioxydante s'avèrent profitables dans le domaine de la parodontologie : les composés phénoliques comme

Les flavonoïdes, sont capables de diminuer le stress oxydatif produit et la peroxydation lipidique en piégeant directement les radicaux libres, et indirectement en stimulant les enzymes responsables du piégeage. Une réduction manifeste de la profondeur de poches parodontales et du niveau d'attachement peut s'observer grâce à l'application localisée d'extrait de grenade, suite à un traitement mécanique par détartrage et surfaçage radiculaire. La liaison entre les fibres de collagène et les tanins contenus dans la grenade permettrait une stabilisation et le maintien des tissus. De plus, la grenade agit sur le taux de protéines salivaires, normalement élevé en cas de parodontite et résultant de l'activité bactérienne.

La grenade aurait notamment un effet antiparasitaire contre le pathogène *Trichomonas tenax* présent dans les gingivites/parodontites ulcéro-nécrotiques (El-Sherbini 2014). Le pouvoir cicatrisant de la grenade est également reconnu : les tanins et composés phénoliques sont capable d'induire la production de collagène en stimulant les fibroblastes, et la stimulation de l'angiogenèse, aidant la cicatrisation.

La littérature décrit une capacité des composants de la grenade à inhiber le *quorum sensing* des bactéries, une des capacités de communication entre elles, en interférant dans leurs signaux de communication, sur *Chromobacterium violaceum* et *Pseudomonas aeruginosa* par exemple. Ce comportement étant nécessaire à leur adaptation au milieu et leur survie, il favorise le développement de résistance aux antibiotiques. C'est pourquoi la grenade paraît prometteuse pour pallier à ce phénomène de résistance actuel et de grande ampleur.

Si la grenade peut offrir une alternative intéressante aux antibiotiques, elle semble être également un bon adjuvant à ces derniers, en montrant une action antibactérienne synergique avec certains d'entre eux comme la tétracycline, l'ampicilline, la gentamicine ou l'oxacilline pour lutter contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, ou encore avec la ciprofloxacine.

D'autre part, certaines entérobactéries appartenant aux espèces *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* voient leur croissance favorisée par la grenade, et inhibent le développement des pathogènes parodontaux. Ils affectent les métalloprotéinases matricielles, l'élastase ou encore la myéloperoxydase, qui détruisent les tissus parodontaux, et entraînent la baisse de médiateurs de l'inflammation dans le liquide crévulaire gingival.

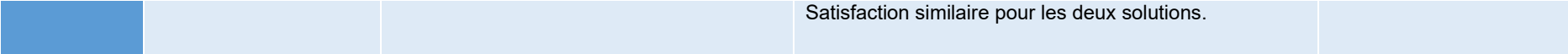
Depuis aussi longtemps que la grenade est utilisée dans la médecine populaire et fait l'objet de nombreuses études pour ses effets thérapeutiques, aucune toxicité ni effets

secondaires indésirables n'ont été observés ni relevés. La sécurité d'utilisation de la grenade en fait une cible thérapeutique d'autant plus intéressante.

Tableau 4 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en parodontologie

Auteur, date, référence	Objectif	Méthode	Résultats	Conclusion
Tyagi <i>et al.</i> , 2021	Effet de la grenade sous forme de gel et copeaux sous-gingivaux sur sujets atteints de parodontite, traités préalablement par détartrage et surfaçage radiculaire	Comparaison des résultats cliniques obtenus avant application, au 21 ^e jour et 45 ^e jour, entre l'application de grenade sous forme de copeaux, application sous forme de gel, et application de placebo, sur des patients présentant des poches parodontales ≥ 4 mm	Amélioration de l'indice de plaque à J21, et de l'indice gingival, de la profondeur de poche au sondage et de l'attachement gingival à J21 et J45 avec le gel et les copeaux de grenade. Amélioration supérieure avec le gel et les copeaux de grenade pour le niveau d'attache clinique par rapport au placebo à J21. (Cf. Figure 8)	Grenade efficace comme adjuvant sous forme de gel ou copeau dans le traitement non chirurgical des parodontites
Eltay <i>et al.</i> , 2021	Effet de l'utilisation de grenade en solution d'irrigation par jet pulsé sur sujets atteints de gingivite chronique, en complément du traitement non chirurgical parodontal	Comparaison de l'indice de plaque, de l'indice gingival et du taux d'IL- β mesurés sur les patients utilisant le jet pulsé de solution à base de grenade et ceux utilisant un jet pulsé à base d'eau distillée, avant irrigation (J0), au moment de l'irrigation (J15) et après (J30).	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution significative ($p \leq 0,05$) et progressive entre J0, J15 et J30 des valeurs des indices PI et GI et du taux d'IL-β dans les deux groupes. • Pas de différence notable entre les valeurs obtenues dans les deux groupes ($p \geq 0,05$), résultats très similaires aux différents intervalles de temps 	Grenade efficace utilisée en solution à 5% d'irrigation avec un jet pulsé dans le cas de gingivite chronique, en complément du détartrage régulièrement effectué.
Somu <i>et al.</i> , 2012	Efficacité <i>in vivo</i> de la grenade sous forme de gel sur les paramètres cliniques des sujets présentant une gingivite chronique, seul ou en association avec le débridement mécanique par détartrage et surfaçage.	Comparaison des valeurs des paramètres cliniques parodontaux et de l'analyse microbiologique de la plaque dentaire prélevée, entre le groupe A traité par débridement mécanique + gel à base de grenade, le groupe B traité par débridement mécanique + gel témoin, groupe C traité par simple gel à base de grenade, et groupe D traité par simple gel témoin.	<ul style="list-style-type: none"> • Amélioration éminente des indices PI, GI et PBI dans les groupes A et B utilisant le gel de grenade et gel placebo avec débridement mécanique. (Cf. Figure 9) • Réduction microbienne significative sur Cocci et Bacilles à Gram négatif avec l'application de gel de grenade seule ou associée au débridement mécanique (groupes A et C) (Cf. Figure 10) 	Grenade efficace sous forme de gel pour compléter le traitement mécanique indispensable de la gingivite chronique
Ahuja <i>et al.</i> , 2011	Efficacité <i>in vivo</i> de la grenade en bain de	Comparaison des valeurs de l'indice de plaque, l'indice gingival et le saignement	Diminution significative des indices PI, GI et PBI dans les deux groupes entre J0 et J15.	Grenade efficace en bain de bouche, au même titre

	bouche en comparaison avec la chlorhexidine, sur sujets présentant une gingivite chronique généralisée, en association au détartrage	au sondage entre le groupe effectuant le bain de bouche à la grenade et celui effectuant le bain de bouche à la chlorhexidine 0,2%, après détartrage, et 2 fois par jour pendant 15 jours	Réduction supérieure du PBI et GI avec le bain de bouche à la grenade : Réduction de score de GI : <ul style="list-style-type: none"> • 26,74% et 43,86% avec grenade, à J7 et J15 • 21,04% et 39,61% avec chlorhexidine à J7 et J15 Réduction de score de PBI : <ul style="list-style-type: none"> • 66,2% et 81,8% à J7 et J15 avec grenade • 32,27% et 62,48% avec chlorhexidine Mais réduction supérieure de l'indice de plaque avec la chlorhexidine : Réduction de score de PI : <ul style="list-style-type: none"> • 11,24% et 22,13% avec grenade à J7 et J15 • 16,02% et 31,3% avec chlorhexidine (Cf. Figures 11, 12 et 13)	que la chlorhexidine, pour contrôler la gingivite chronique après détartrage, meilleure action styptique que la chlorhexidine
Prakash <i>et al.</i> , 2017	Effet de la grenade <i>in vivo</i> au niveau des paramètres clinique parodontaux et des taux d'IL-1, IL-8 et CCL28, sur sujets atteints de gingivite expérimentale (provoquée)	Comparaison des paramètres cliniques parodontaux (GI, PI, BOP et PPD) et des taux d'IL-1, IL-8 et CCL28 dans le fluide crévulaire gingival de 80 personnes atteintes de gingivite provoquée (par absence de contrôle mécanique de plaque) portant une gouttière contenant un gel de grenade à 10%, un gel de chlorhexidine, un gel combiné de chlorhexidine/ornidazole ou au gel placebo, pendant 14 jours, sans autres procédures d'hygiène mécanique	Plus faible taux d'IL-1 β , d'IL-8 et de CCL28 dans le fluide crévulaire gingival du groupe utilisant gel de grenade et scores des paramètres cliniques (GI, PI, BOP) plus faibles comparativement aux autres gels, sauf pour score de PPD resté similaire et différence non significative. (Cf. Figure 20)	Grenade efficace sous forme de gel pour contrôler les paramètres cliniques parodontaux et les médiateurs de l'inflammation gingivale
Sedigh-Rahimabadi <i>et al.</i> , 2017	Efficacité <i>in vivo</i> de la grenade <i>Golnar</i> en bain de bouche sur sujets diabétiques atteints de gingivite, en comparaison avec la chlorhexidine, en association avec un détartrage	Comparaison des paramètres cliniques parodontaux (PBI, PI, GI et PPD) sur 70 sujets utilisant soit un bain de bouche à la grenade, soit un bain de bouche à la chlorhexidine 0,2%, pendant 2 semaines, subissant ensuite un détartrage, puis une évaluation des paramètres 2 semaines après avec arrêt de bain de bouche	Amélioration nette de tous les paramètres cliniques parodontaux avec le bain de bouche à la grenade et celui à la chlorhexidine, de manière significative pour chacun ($p < 0,001$). Pas de différence significative entre l'efficacité des deux bains de bouche ($p < 0,05$), sauf une plus grande diminution de l'indice GI par le bain de bouche à la grenade, présentant une absence de coloration et du goût amer par rapport à la chlorhexidine.	Grenade <i>Golnar</i> efficace et sûre en solution de bain de bouche pour améliorer les paramètres parodontaux des patients diabétiques présentant une gingivite



Satisfaction similaire pour les deux solutions.

2.2.5. Dermatologie

❖ **Immunité innée**

Par sa propriété anti-inflammatoire, la grenade et ses composants seraient en mesure d'induire une immunorégulation des lymphocytes T et B et des macrophages, ainsi qu'une immunomodulation des médiateurs de l'immunité innée de la muqueuse buccale par l'acide ellagique (Prasad et Kunnaiah 2014; Promsong *et al.* 2015)

Pour rappel, la muqueuse buccale représente une barrière de protection contre les micro-organismes à la fois physique, par l'adhérence des cellules épithéliales entre elles et leurs jonctions, mais aussi chimique, par leur production de médiateurs de l'immunité innée. La production permanente de ces médiateurs par les cellules épithéliales buccales défend l'invasion des pathogènes colonisateurs et participent à l'homéostasie de la cavité buccale. Un déficit de l'immunité innée et une modulation de l'expression de ces médiateurs ouvrent ainsi la porte aux infections telles que la candidose orale, une infection opportuniste fréquemment rencontrée chez les patients immunodéficients en cas de diabète, de syndrome de déficience de l'immunité acquise, ou de cancer (Promsong *et al.* 2015).

Dans leur étude *in vitro*, Promsong *et al.* ont montré qu'un composant majeur de la grenade, l'acide ellagique, est en mesure d'impacter l'immunité innée des cellules de la muqueuse buccale (Promsong *et al.* 2015). Une mesure de l'expression de médiateurs de l'immunité (au niveau de la transcription et traduction génique) a été réalisée dans des cultures de cellules épithéliales gingivales humaines qui ont été soit exposées à de l'acide ellagique à différentes concentrations (12,5, 25, 50 et 100µM), soit non traitées (cultures témoins). Les résultats obtenus ont mis en exergue un différentiel d'expression entre les médiateurs suivants : la protéine microbicide nommée β -défensine-2 humaine (hBD-2), l'inhibiteur de protéase des leucocytes sécrétoires (SLPI), l'interféron-C (IFN-C), les interleukines IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 et IL-10, les chimiokines CCL20 et CXCL5, RANTES et MCP-1, et le facteur de nécrose tumorale TNF- α .

Les analyses n'ont pas révélé de toxicité cellulaire due à l'exposition de l'acide ellagique. L'étude a mis en évidence la capacité de l'acide ellagique à induire une hausse éloquentes d'expression génique des protéines hBD-2 et SLPI dans les cellules épithéliales buccales, ainsi qu'une expression différentielle concernant les cytokines et chimiokines avec une hausse remarquable de RANTES, IL-1 β et IL-2, mais une légère diminution de CCL20, et CXCL-5, ainsi que de l'IL-6, TNF- α et IL-8, généralement dose-dépendante, et significative seulement pour IL-8 (Figure 14). En revanche, IFN-C et IL-10 ont été indétectables et on observe une expression relativement stable de l'IL-4 et MCP-1 qui n'ont pas été sensibles à l'acide ellagique.

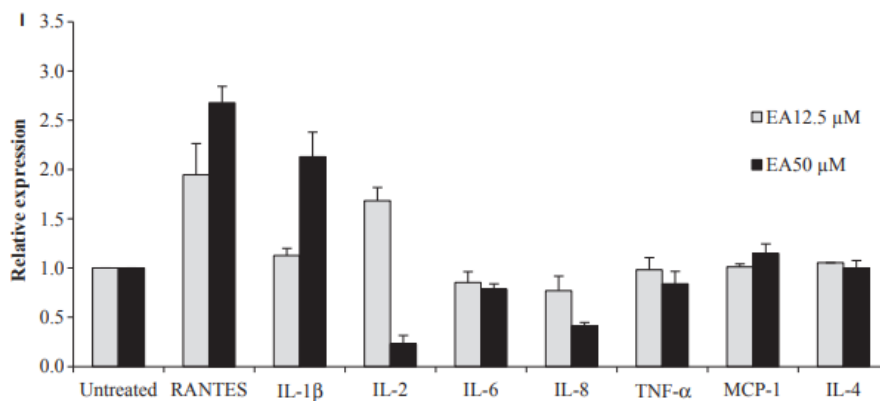


Figure 4 The effects of ellagic acid (EA) at 12.5 and 50 μ M on levels of innate immune mediators in human gingival epithelial cells (HGEs) culture. Values in (A) to (H) represent cytokine and chemokine levels in pg/ml and (I) represents relative expression compared with untreated control. Cytokine and chemokine levels were measured by Magnetic luminex performance assay. Results were analyzed as mean \pm SD of two independent experiments. *P*-values were presented as * <0.05 ; ** <0.01 ; and *** <0.001 vs. untreated control.

Figure 54 : Taux d'expression des gènes pour chaque cytokine et chimiokine détectée dans les cultures de cellules épithéliales exposées à l'acide ellagique à une concentration de 12,5 μ M et à une concentration de 50 μ M, en comparaison au témoin non traité

(Source : (Promsong *et al.*, 2015))

Des essais cliniques ultérieurs sont à envisager afin de déterminer si l'aptitude de l'acide ellagique à moduler le taux de médiateurs de l'immunité innée s'appliquerait *in vivo* et permettrait de renforcer une immunité innée altérée de la muqueuse buccale, afin de prévenir les infections, comme la candidose chez les patients diabétiques, atteints de cancer ou du VIH. En effet, hBD-2 est très efficace pour contrer la levure *Candida albicans*. De plus, les cellules orales cancéreuses présentent un taux de hBD-2 et SLPI moindres par rapport aux cellules épithéliales saines. Les protéines hBD-2 et SLPI présentent également des activités contre l'infection du VIH. C'est pourquoi la

consommation ou l'application d'acide ellagique peut s'avérer intéressante sous forme de médication topique au niveau buccal. De plus, l'IL-1 β stimule l'activité des lymphocytes T, régule l'expression de hBD-2 et favorise celle de l'IL-2, qui va elle-même dynamiser l'activation des lymphocytes B et T cytotoxiques, des cellules NK et des macrophages. En tant qu'agent chimiotactique des cellules de l'immunité, la chimiokine RANTES est aussi capable d'inhiber l'infection virale du VIH. L'acide ellagique, qui agit aussi contre une enzyme du syndrome du VIH, pourrait favoriser l'immunité contre cette infection. La diminution d'expression de l'IL-8 obtenue dans l'étude, étant la seule significative, peut supposément s'expliquer selon Promsong *et al.* par la capacité anticancéreuse de l'acide ellagique qui inhibe le facteur anti-apoptotique NF- κ B, un facteur impliqué dans l'immunorégulation des médiateurs IL-6, IL-8 et TNF- α et dans la tumorigenèse.

En outre, bien qu'une modulation de l'expression de médiateurs de l'immunité innée ait été montrée, d'avantage d'études expérimentales sur l'acide ellagique sont nécessaires pour comprendre précisément ses mécanismes d'action impliqués dans la réponse immunitaire des cellules épithéliales orales et la régulation des médiateurs de l'inflammation, afin d'envisager une éventuelle médication topique contre la candidose orale, ou encore le lichen plan oral.

❖ **Activité antifongique**

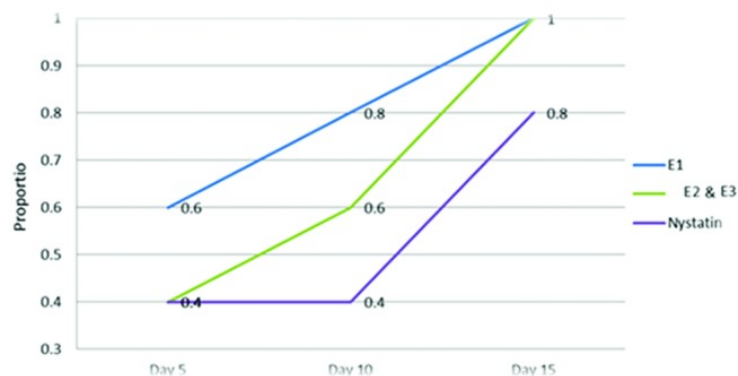
La punicalagine, l'acide ellagique et les flavonols (catéchine, gallocatéchine, granatine, quercétine et kaempférol) contenus dans la grenade sont responsables d'une puissante activité antifongique qui s'explique par leur faculté à pénétrer la paroi cellulaire et précipiter les protéines, à inhiber les enzymes extracellulaires des micro-organismes nécessaire pour leur adhésion, à inhiber leur croissance en supprimant le substrat et les ions métalliques nécessaires, et à altérer leur métabolisme en empêchant la phosphorylation oxydative (Kumar *et al.* 2020).

Comme dit précédemment, la candidose orale, ou muguet buccal, est la mycose la plus fréquente de la cavité buccale, causée par l'agent pathogène *Candida albicans* qui colonise la langue, les joues et le palais lorsque les conditions sont favorables pour

lui, telles qu'une immunodéficience, une sécheresse buccale, le tabagisme, le port d'une prothèse dentaire, la chimio ou radiothérapie et autres traitements immunosuppresseurs. Le traitement de référence étant la prise d'antibiotique depuis des années, l'ampleur grandissante de la résistance aux antibiotiques et ses effets néfastes sur la santé justifie une fois de plus la recherche d'alternative auprès de la phytothérapie (Bassiri-Jahromi *et al.* 2018).

L'effet antifongique *in vivo* de la grenade et ses composants a été observé par Bassiri-Jahromi *et al.* sur des rats de laboratoire, préalablement immunodéprimés et ayant été infectés par la candidose pour l'étude (Bassiri-Jahromi *et al.* 2018). Les résultats de la figure 15 ci-dessous, suite à un traitement effectué sur 15 jours avec des extraits de grenade en comparaison avec de la nystatine, ont révélé une efficacité remarquable de l'extrait de grenade à toutes les concentrations testées et une guérison totale du groupe à la fin du traitement. La concentration de 500µg/mL d'extrait de grenade est cependant la plus efficace dès J5, mais la différence entre l'extrait de grenade et la nystatine n'a pas été significative.

Figure1



Efficacy of the pomegranate peel extract evaluated in 3 concentrations (E1: 500, E2: 250, and E3: 125 µg/mg) and nystatin against *Candida albicans* after 5, 10, 15 days in the Wistar rats.

Figure 55 : taux de guérison de l'infection par *Candida albicans* avec l'extrait de grenade concentré à 500µg/mL, 250µg/mL et 125µg/mL en comparaison avec la nystatine, au cours du traitement à J5, J10 et J15

(Source : (Bassiri-Jahromi *et al.*, 2018))

Cette étude souligne donc l'efficacité de l'activité antifongique de la grenade contre *Candida albicans*, attribuée aux composés phénoliques qu'elle contient, et la sûreté de son utilisation car aucun effet toxique n'a été relevé. Une application topique

d'extrait de grenade comme médication contre la candidose est une piste thérapeutique à envisager, pouvant présenter une alternative sûre, reproductible et rentable, aux antibiotiques usuels comme la nystatine.

L'utilisation d'extrait de grenade sous forme de gel concentré à 6,25% a notamment été comparée à l'application d'un gel de miconazole à 2% dans un essai clinique sur des patients atteints de carcinome épidermoïde et sous traitement antinéoplasique, afin d'évaluer leur efficacité contre l'apparition de candidose, complication récurrente des traitements anti-cancéreux (SANTOS *et al.* 2017). En effet, des effets secondaires au niveau buccal tels que la mucite, la dysgueusie, la xérostomie et particulièrement la candidose orale sont fréquemment décrits lors de traitement par radiothérapie dans les cancers de la tête et du cou, principalement en raison de la baisse du flux salivaire. L'étude menée par Santos *et al.* a montré que malgré les nombreux facteurs qui diffèrent chez les patients malades inclus dans l'essai (tabagisme, alcoolisme, comorbidités associé au cancer), l'application de gel à base de grenade s'est avérée considérablement efficace pour la majorité des patients du groupe expérimental avec 63,6% de cas n'ayant pas développé de candidose, bien que l'efficacité soit moindre en comparaison avec le gel de miconazole qui a montré une absence totale d'apparition de candidose dans le groupe (Figure 16). Aucun effet indésirable n'a été associé à l'application du gel.

Table 2. Evaluation of mucositis, dysgeusia, candidosis and xerostomia appearance during the treatment according to the groups, Campina Grande/PB, Brazil, 2015

Variables	Answers	Group 1		Group 2	
		f	%	f	%
Mucositis	Appeared	8	72.7	3	50
	Did not appear	3	27.3	3	50
	χ^2 (p)	0.16 (0.68)			
Dysgeusia	Appeared	7	63.6	4	66.7
	Did not appear	4	36.4	2	33.3
	χ^2 (p)	0.00 (1.00)			
Oral Candidiasis	Appeared	4	36.4	0	0.0
	Did not appear	7	63.6	6	100
	χ^2 (p)	1.19 (0.27)			
Xerostomia	Appeared	6	54.5	4	66.7
	Did not appear	5	45.5	2	33.3
	χ^2 (p)	0.00 (1.00)			

Figure 56 : Taux d'apparition de mucosite, dysgueusie, candidose orale et xérostomie dans le groupe 1 (gel de grenade) et dans le groupe 2 (gel de miconazole) durant le traitement

(Source : (Santos *et al.*, 2017))

Pour appuyer ces résultats et encourager les études *in vivo* en ce sens, l'activité antifongique *in vitro* prometteuse de la grenade a été prouvée dans de multiples études et notamment celle de Kumar *et al.* (Kumar *et al.* 2020). En utilisant la méthode de diffusion en puits de gélose, la zone d'inhibition contre *Candida albicans* de l'extrait de grenade s'est révélée proportionnelle et effective à chaque concentration testée, et similaire à celle du clotrimazole de manière significative, avec une CMI proche égale à 30µL/mL pour la grenade et 20µL/mL pour le clotrimazole (Figure 17).

Table 1: Zones of inhibition of *Punica granatum*, ethanol and clotrimazole group at different concentrations

Concentration	<i>Punica granatum</i> (peel)	Ethanol	Clotrimazole
10 µl	1.32±0.39	0	2.87±0.25
20 µl	2.62±0.47	0	3.60±0.59
30 µl	4.62±0.47	0	5.50±0.77
50 µl	5.85±0.31	0	10.17±0.56
100 µl	10.50±0.43	1.02±0.05	15.10±1.31
150 µl	16.42±0.95	2.22±0.23	19.20±0.54
200 µl	22.12±0.78	3.85±0.36	24.55±0.79
P	0.000	0.000	0.000

P<0.05 is significant

Figure 57 : Mesures des zones d'inhibition de *Candida albicans* au contact de l'extrait de grenade, d'éthanol (témoin négatif) et de clotrimazole, en fonction de leur concentration

(Source : (Kumar *et al.*, 2020))

❖ Stomatite dentaire induite par la prothèse

La propriété antifongique contre *Candida albicans* des composés décrits précédemment permettrait une alternative aux antibiotiques antifongiques synthétiques. En effet, le traitement de la stomatite dentaire implique une antibiothérapie antifongique topique ou parfois systémique, un nettoyage précautionneux des prothèses dentaires et une hygiène bucco-dentaire correcte, car l'infection par *C. albicans* au niveau de la muqueuse couverte par la prothèse en est la principale cause. Les antibiotiques de référence sont la nystatine, l'amphotéricine-B et le miconazole, très couramment prescrits. Les facteurs de développement de *C. albicans* sur les surfaces internes de prothèses dentaires sont essentiellement la rugosité et la force d'attraction de la surface du matériau prothétique, ainsi que son

caractère hydrophobe, générant une inflammation au niveau des muqueuses en contact.

Une étude portant sur l'effet de la grenade chez des patients porteurs de prothèses dentaires atteints de stomatite dentaire a établi que l'application d'un gel à base de grenade appliqué trois fois par jour sur les muqueuses et les prothèses dentaires face interne, pendant quatorze jours et en complément du brossage, est efficace pour réduire drastiquement la colonisation mycologique au niveau de la muqueuse du palais (Batista da Silva *et al.* 2021). Selon la figure 1 ci-dessous, l'extrait de grenade serait même le seul à maintenir une inhibition de *C. albicans* continue trente jours après la fin du traitement (T2) comparativement aux extraits de propolis, d'*Uncaria tomentosa* et à la nystatine dont la numération mycologique augmente entre la fin du traitement à 14 jours (T1) et le suivi à 30 jours (T2). L'inhibition de *Candida* dans le groupe témoin traité à l'eau distillée démontre tout de même la nécessité du brossage dentaire quotidien, qui a été effectué quotidiennement dans tous les groupes de l'étude.

Table 2 - Median and interquartile range of *Candida* colony counts in CFU/mL collected from the palates during the three stages of evaluation

Groups (n = 6)	T0	T1	T2	P value †
G1	40.0 ± 84.0 ^{a,A}	9.5 ± 1.8 ^{b,A}	10.5 ± 2.5 ^{a,b,A}	0.005
G2	75.5 ± 48.0 ^{a,A}	1.0 ± 1.5 ^{b,A}	7.5 ± 12.7 ^{a,b,A}	0.009
G3	62.5 ± 45.1 ^{a,A}	4.2 ± 5.7 ^{b,A}	6.7 ± 7.6 ^{a,b,A}	0.005
G4	50.5 ± 52.3 ^{a,A}	5.2 ± 9.3 ^{b,A}	2.7 ± 9.0 ^{a,b,A}	0.01
G5	67.5 ± 64.6 ^{a,A}	5.2 ± 11.5 ^{b,A}	7.5 ± 3.5 ^{a,b,A}	0.005
P value †	0.98	0.46	0.88	

Figure 58 : Numération mycologique de *Candida* (en UFC/mL) dans le groupe G1 (eau distillée), G2 (suspension de nystatine), G3 (extrait de propolis), G4 (extrait de grenade), G5 (extrait d'*Uncaria tomentosa*), à T0, T1 et T2.

(Source : (Batista da Silva *et al.*, 2021))

La grenade peut donc présenter une alternative intéressante à ces antifongiques synthétiques pour traiter la stomatite dentaire au vu de son efficacité proche de ces derniers, dans le but d'éviter les effets secondaires comme les nausées, vomissements, diarrhées, réactions allergiques, et toxicité rénale et hépatique, mais surtout le développement de résistance aux antifongiques chimiques et les récives qui en découlent. C'est pourquoi il est important d'envisager davantage d'études avec de plus grands effectifs pour concevoir une application clinique de la grenade.

L'étude de Venante *et al.* a analysé l'effet de l'extrait de grenade incorporé dans un matériau de revêtement de prothèse dentaire, un biopolymère de fibrine, enrobant la traditionnelle résine polyméthyl méthacrylate (PMMA), pour la prévention de l'apparition de *Candida albicans* (Venante *et al.* 2021). La fabrication informatisée par CFAO de prothèse dentaire à partir de bloc de résine pré-polymérisé permet de limiter la rugosité de surface. Quant aux nettoyeurs conventionnels des prothèses, leur utilisation au long terme a tendance à augmenter la porosité de la surface et à colorer/décolorer la résine, favorisant le développement microbien. L'ajout d'adhésifs sur les surfaces des prothèses, comme des colles de fibrine associée à des agents antimicrobiens en tant que matériau de revêtement, pourrait s'avérer prometteur pour lutter contre le développement de biofilm.

En comparant la colonisation microbienne du matériau de biopolymère de fibrine seule (FB), du matériau composé de chlorhexidine (FBCh) et celui incorporé d'extrait de grenade (FBPg), le comptage d'unités formatrices de colonies (UFC) de *C. albicans* prélevés sur les surfaces des matériaux révèlent une inhibition bactérienne incontestable des matériaux composés d'extrait de grenade et de chlorhexidine, avec la plus grande efficacité pour la chlorhexidine incorporée.

Selon les analyses, l'inhibition des colonies bactériennes dans le groupe FBPg apparaît significativement plus efficace que le groupe témoin à partir de 48 heures et jusqu'à 72 heures, que ce soit pour les matériaux fabriqués par CFAO et ceux par méthode classique de polymérisation à chaud des résines. De plus, l'analyse de l'activité cellulaire du biofilm *C. albicans* a révélé une diminution par le groupe FBPg et plus fortement encore par FBCh comparativement au groupe témoin, concernant les deux types de matériaux et à chaque intervalle de temps testés. Comme l'illustre la figure 26 ci-dessous, l'analyse microscopique par balayage laser a également montré une diminution du biofilm de *C. albicans* subsistant sur les surfaces du matériau composé d'extrait de grenade FBPg par rapport au matériau témoin (CT) et composé de fibrine (FB), mais moindre par rapport à celui incorporé de chlorhexidine FBCh. Ceci a été le cas après 24, 48 et 72 heures d'incubation. Finalement, bien que la chlorhexidine incorporée dans un biopolymère de fibrine s'est montrée plus efficace, l'incorporation d'extrait de grenade a bel et bien permis une activité antibactérienne contre l'adhésion et le développement de *C. albicans* sur les deux types de résine PMMA (pré-polymérisés par CFAO ou polymérisés à chaud), et suggère des essais

cliniques pour mesurer son activité *in vivo* avec les procédures d'hygiène et de désinfection des prothèses dentaires, son effet sur les prothèses et sa longévité.

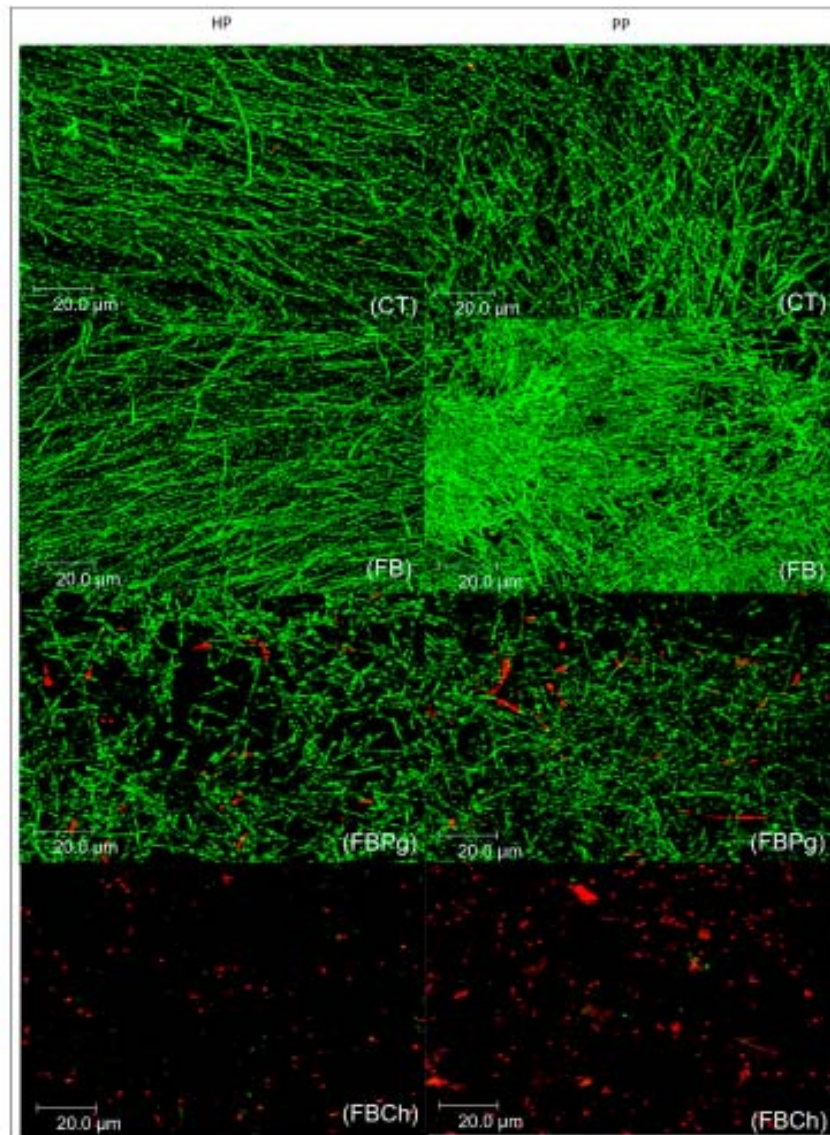


Figure 2. Confocal images of *C. albicans* biofilms developed on heat-polymerized (HP) and pre-polymerized (PP) surfaces after 48 h of incubation. CT: control; FB: Fibrin biopolymer; FBPg: *P. griseum* incorporated in fibrin biopolymer; FBCh: Chlorhexidine incorporated in fibrin biopolymer.

Figure 59 : Coupes de microscope confocal à balayage laser après 48h d'incubation de l'activité du biofilm sur les surfaces de chaque matériau de revêtement testé, à gauche sur les matériaux polymérisés à chaud, à droite sur les matériaux fabriqués par CFAO

(Source : (Venante *et al.*, 2021))

Les résultats de l'étude menée par Almeida *et al.* à propos de l'action antimicrobienne de l'extrait de grenade incorporé dans l'adhésif de recouvrement de prothèse dentaire (COREGA®) sont en accord avec l'étude de Venante *et al.* (Almeida *et al.* 2018). En effet, la microporosité de la surface de la résine acrylique des prothèses permet le logement de *C. albicans* et sa résistance en se protégeant de l'élimination mécanique par le flux salivaire, le brossage, et l'action des traitements antifongiques, limitée de plus par une action à court terme lorsqu'ils sont appliqués localement et entraînant une toxicité rénale, hépatique et une résistance par voie systémique. C'est pourquoi l'utilisation de la phytothérapie même à court terme dans les adhésifs pour traiter et prévenir la stomatite dentaire serait une alternative considérable, en complément des procédures d'hygiène buccales. L'étude a comparé l'action anti-biofilm contre *C. albicans* de l'adhésif COREGA® seul (AD), sur des échantillons de résine acrylique, de l'adhésif incorporé d'extrait d'*Eryngium giganteum* (AD/Eg), de l'adhésif incorporé d'extrait de grenade (AD/Pg), de l'adhésif incorporé de nystatine (AD/Nt) et un échantillon non traité par l'adhésif (PBS). Selon la figure 27 ci-dessous, l'adhésif seul (AD) a montré une plus forte action antifongique que les échantillons de résine non traités à 3, 6 et 12 heures d'incubation, en raison de sa composition en polyéthylène glycol, un agent chimique hydrosoluble défavorisant l'adhésion microbienne à la résine. La simple application d'adhésif permettrait donc d'inhiber l'adhérence et le développement fongique sur les surfaces de la prothèse, en plus d'améliorer la rétention prothétique et le confort masticatoire du patient.

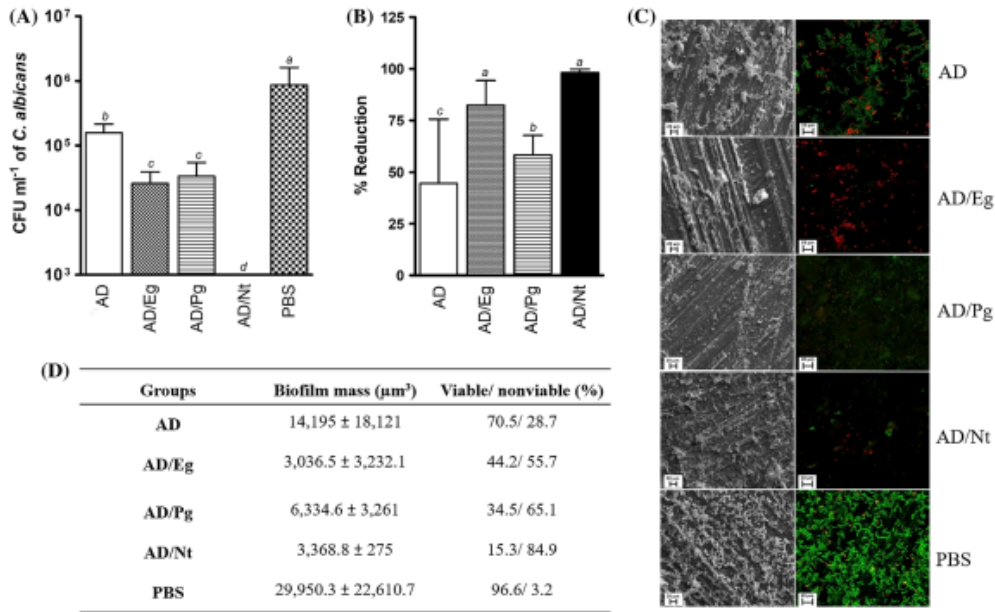


Figure 1. Analysis of *C. albicans* biofilm after development for 3 h on surfaces treated with COREGA® powder alone (AD) or combined with CH₂Cl₂ (AD/Eg) or AcOEt (AD/Pg). (A) Quantification (mean ± SD) of the CFU ml⁻¹ on the surface of heat-cured acrylic resin specimens, according to the Mann-Whitney test. (B) Percentage (mean ± SD) reduction in the metabolic activity of *C. albicans* biofilms by the XTT reduction assay, according to a two-way analysis of variance (ANOVA), followed by a *post hoc* Tukey HSD. (C) SEM images of the *C. albicans* biofilm microarchitecture (first column) and CLSM images showing the distribution of viable (green) and nonviable (red) fungal cells (second column) (scale bars 20 μm). (D) Mean ± SD of the biofilm mass (μm³) and mean percentage (%) of viable and nonviable cells. The data obtained from CLSM images were analyzed by the Biolume software program. For all evaluations, untreated specimens (PBS) or specimens treated with nystatin (AD/Nt) were the controls, and three independent experiments were performed in triplicate ($n = 90$ – A and B) or in duplicate per group ($n = 10$ – C and D). Different letters represent $p \leq 0.05$.

Figure 60 : Évaluation et comparaison dans chaque groupe, après 3h d’incubation, du nombre d’UFC (A), de l’activité métabolique fongique (B), de l’analyse microscopique de la structure du biofilm et la viabilité des cellules fongiques (C) et de la masse du biofilm (D)

(Source : (Almeida *et al.*, 2018))

Les extraits de plantes incorporées (groupes AD/Eg et AD/Pg) ont démontré une meilleure activité antifongique que l’adhésif seul (AD) et la résine non traitée (PBS), ceci de façon significative, par une analyse du nombre d’UFC bien moindre, par des images obtenues par microscopie de la microstructure du biofilm peu dense et de l’activité du métabolisme de *C. albicans* visiblement réduite, et par évaluation de la masse du biofilm qui se trouve diminuée, après chaque intervalle de temps testé (3, 6 et 12 heures d’incubation). L’incorporation des extraits de grenade et d’*E. giganteum* dans l’adhésif ont donc prouvé leur capacité antifongique jusqu’à 12 heures contre *C. albicans*, en minimisant sa colonisation et la croissance du biofilm sur la surface de résine acrylique, bien que la nystatine incorporée soit encore plus efficace. Son application clinique reste à étudier pour envisager un adhésif composé d’extrait de

grenade, dont l'action antifongique serait éventuellement potentialisée en combinaison avec la nystatine, pour traiter la stomatite dentaire.

❖ Stomatite aphteuse récurrente

Le pouvoir cicatrisant de la grenade est permis par les tanins en favorisant la production de collagène, par leur propriété anti-inflammatoire qui inhibe certaines interleukines et le facteur TNF- α ainsi que leur action antioxydante inhibant le stress oxydatif. Il permet d'agir sur la stomatite aphteuse récidivante, définie par l'apparition répétée de petits ulcères douloureux au niveau de la langue et de la muqueuse jugale. Cette pathologie buccale multifactorielle suscite souvent l'emploi d'agent analgésique, anti-inflammatoires voir antibactérien à application locale pour soulager les symptômes et éviter la surinfection.

L'étude de Tavangar *et al.* a constaté les bienfaits de l'application d'un gel à base de grenade pour traiter la stomatite aphteuse récurrente orale, en comparant le temps de soulagement de la douleur et le temps de guérison complète avec un gel placebo et le gel Triadent (Tavangar *et al.* 2019). D'après les résultats d'analyse obtenus dans les figures 19 et 20 ci-dessous, l'application de gel de grenade a permis d'accélérer la guérison totale des aphtes et de soulager l'intensité de la douleur, grâce aux tanins que le fruit contient et leur propriété cicatrisante (Tavangar *et al.* 2019).

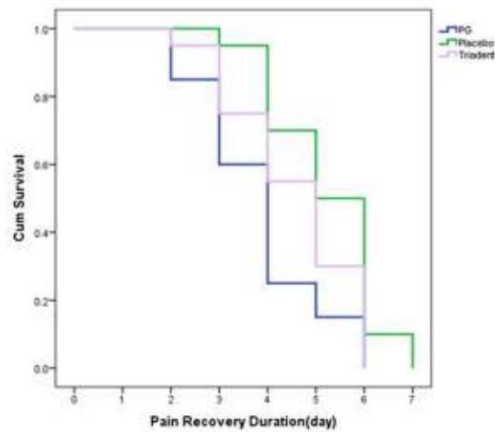


Figure 1: Survival analysis for duration of pain recovery in three groups

Figure 61 : Durée du soulagement de la douleur en jour, mesurée par échelle visuelle analogique, dans le groupe traité par gel de grenade (bleu), le gel Triadent (beige), et le groupe placebo (vert)

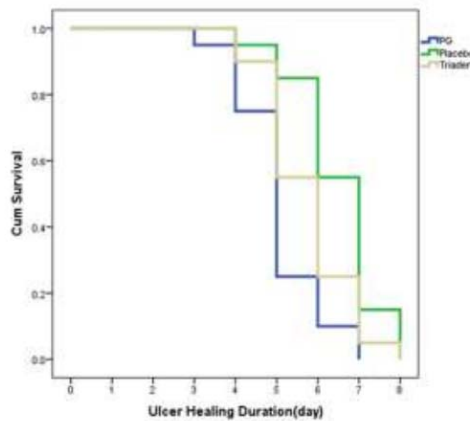


Figure 2: survival analysis for ulcer healing duration in three groups

Figure 39 : Durée en jour de la cicatrisation de l'aphte, évaluée par mesure de sa taille en mm, dans chaque groupe

(Source : (Tavangar *et al.*, 2019))

Ces résultats sont en accord avec l'étude menée antérieurement par Gavanji *et al.* en 2014, qui a reconnu l'effet thérapeutique *in vivo* de la grenade utilisée en solution de bain de bouche pendant dix jours pour traiter les lésions de la stomatite aphteuse récidivante mineure et soulager les symptômes, comparé à une solution placebo (Gavanji *et al.* 2014). Grâce aux 210 patients qui ont participé à cet essai, l'étude a objectivé une activité antioxydante plus élevée de l'extrait de grenade pour la variété *pleniflora*, et de manière générale lorsque l'extrait est préparé sous forme alcoolique plutôt qu'aqueuse, mais surtout une efficacité probante pour les deux formes

d'extraits de grenade sur les lésions aphtoïdes. En effet les extraits de grenade ont réduit les lésions de taille dès le 2^e jour de traitement pour disparaître complètement au 4^e jour dans le meilleur cas (avec la variété *pleniflora*), sinon au 6^e jour, alors que les lésions étaient encore présentes au 9^e jour dans le groupe placebo. L'extrait alcoolique d'extrait de grenade de la variété *pleniflora* a permis un rétablissement complet très efficace en 3,07 jours ($\pm 0,65$) en moyenne et 2,11 jours ($\pm 0,85$) en extrait aqueux.

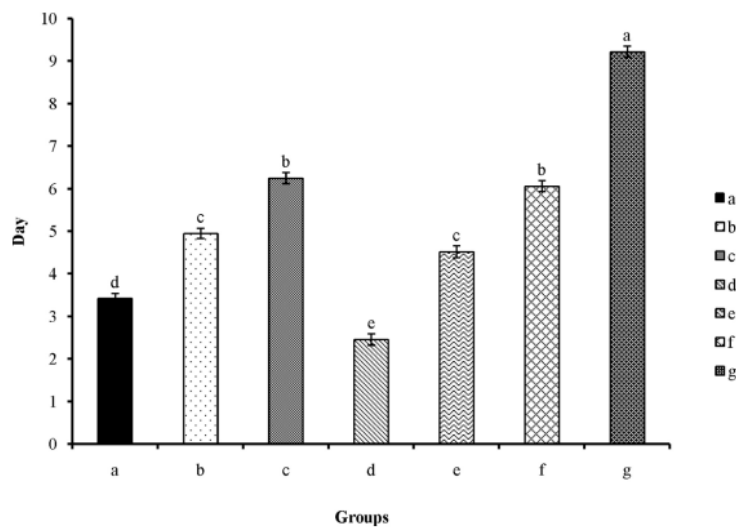


Fig. 1 – Complete treatment of aphthous in different groups. Different letters represent the meaningful difference between herbal extracts ($p < 0.0001$). (a) Received alcoholic extract of *Punica granatum* var. *pleniflora*; (b) received alcoholic extract of *P. granatum* var. *Sweet Alak*; (c) received alcoholic extract of *P. granatum* var. *Saveh Black*; (d) received water extract of *P. granatum* var. *pleniflora*; (e) received water extract of *P. granatum* var. *Sweet Alak*; (f) received water extract of *P. granatum* var. *Saveh Black*; and (g) received nothing.

Figure 40 : Moyennes de durée de traitement (en jour) jusqu'à réduction complète des lésions, dans les groupes utilisant une solution d'extrait de grenade selon différentes formes (alcoolique ou aqueuse) et différentes variétés (groupes a à f) et dans le groupe témoin placebo (groupe g)

(Source : (Gavanji *et al.*, 2014))

Le niveau de douleur et de satisfaction ressentie, évalués avec l'échelle visuelle analogique, ont évolué parallèlement aux durées moyennes de rétablissement complet selon les groupes, d'après les résultats de la figure ci-contre.

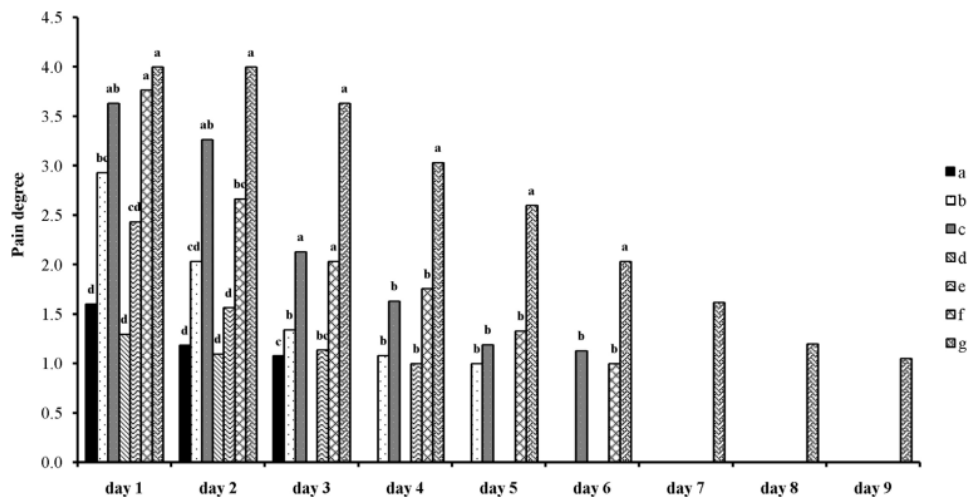


Fig. 4 – Effect of time on pain degree in different groups. Lower-case letters on each column represent a meaningful difference ($p < 0.0001$). (a) received alcoholic extract of *Punica granatum* var. pleniflora; (b) received alcoholic extract of *P. granatum* var. Sweet Alak; (c) received alcoholic extract of *P. granatum* var. Saveh Black; (d) received water extract of *P. granatum* var. pleniflora; (e) received water extract of *P. granatum* var. Sweet Alak; (f) received water extract of *P. granatum* var. Saveh Black; and (g) received nothing.

Figure 41 : Degré de douleur des lésions aphteuses, évalué selon l'échelle visuelle analogique, dans chaque groupe en fonction du temps

(Source : (Gavanji *et al.*, 2014))

❖ Ulcères traumatiques

La grenade permet une accélération du processus de guérison des ulcères traumatiques. Les agents bioactifs antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants de la grenade offrent une alternative aux stéroïdes pour améliorer la cicatrisation des lésions aphtoïdes et des ulcères traumatiques. Le traitement de référence des lésions ulcéreuses et aphtoïdes est l'acétonide de triamcinolone, un corticoïde permettant de réduire l'inflammation, associé parfois à un bain de bouche antiseptique au gluconate de chlorhexidine. Toutefois, ce traitement anti-inflammatoire peut induire des effets indésirables tels que le développement d'une candidose, une sécheresse et une irritation buccale. Or, il est décrit que l'acide ellagique a un pouvoir cicatrisant car il module le processus de fibrose au niveau des lésions tissulaires chroniques en induisant la synthèse de collagène, l'expression de TGF- β 1 (facteur de croissance transformant) et le taux de α -SMA (α -smooth muscle actin). Il permet aussi le piégeage de radicaux libres et réduit le taux d'espèces réactives de l'oxygène par son activité antioxydante, qui se trouve potentialisée avec l'anthocyanidine.

Le pouvoir cicatrisant de la grenade a été admis dans une étude de Hernawati *et al.*, en prouvant l'efficacité de l'application d'un gel à base de grenade sur des ulcères traumatiques chez des rats de laboratoire *Wistar* (Hernawati *et al.* 2019). En raison de la composition de la grenade en agents anti-inflammatoires et antioxydants, Hernawati *et al.* ont comparé l'effet de l'application topique réalisée deux fois par jour de gel à base de grenade à des concentrations de 12,5%, 25%, 50% et 75%, avec l'application de l'acétonide de triamcinolone 0,1% sur des lésions traumatiques orales chez 24 rongeurs. En relevant la taille des ulcères à 1,3,5 et 7 jours jusqu'à cicatrisation, une nette diminution a été observée avec le gel de grenade à toutes les concentrations ainsi qu'une durée de guérison considérablement réduite, avec une différence significative ($p=0,044$) entre le gel à 75% de grenade (6,5 jours en moyenne) et le gel d'acétonide de triamcinolone à 0,1% (8,3 jours).

Table 1. The mean width and recovery time of traumatic ulcers

Groups	The mean width of ulcers (mm)							The mean of recovery time
	D1	D3	D5	D7	D8	D9	D10	
Group 12.5%	7.413	5.388	1.734	0.556	0.298	0.196	0	9.3
Group 25%	9.412	4.533	1.254	0.708	0.196	0	-	8.5
Group 50%	8.311	4.369	0.843	0.196	0	-	-	6.8
Group 75%	9.604	2.508	0.508	0	-	-	-	6.5
PC Group	13.154	5.617	2.781	0.785	0.349	0	-	8.3
NC Group	12.767	4.352	2.258	0.9	0.6	0.298	0	9.8

Figure 42 : Moyenne de surface des ulcères (en mm) et de temps de guérison complète (en jour) dans les groupes appliquant l'extrait de grenade à 12,5%, 25%, 50%, 75%, le groupe contrôle positif (acétonide de triamcinolone) et le groupe contrôle négatif (eau distillée) à 1,3,5,7,8,9 et 10 jours

(Source : (Hernawati *et al.*, 2019))

Le gel de grenade à 75% a montré les résultats les plus concluants pour guérir les ulcères traumatiques. En effet, on observe une efficacité générale croissante des gels de grenade avec l'augmentation de leur concentration.

❖ Cicatrisation post-extractionnelle

La stimulation de l'angiogenèse par les composants de la grenade et leur action anti-inflammatoire, notamment par l'acide ellagique et la punicalagine, contribuent à son pouvoir cicatrisant, en cas de plaie post-extractionnelle notamment.

Une extraction dentaire engendre un processus inflammatoire des tissus parodontaux environnants, comprenant l'activation des cellules macrophagiques, de cytokines, d'interleukines pro-inflammatoires et du TNF- α , entamant le processus de cicatrisation. Les facteurs de croissance angiogénique, tels que le VEGF, induisant la néoformation vasculaire dès le 3^e jour, et le PDGF, facteur chimiotactique des cellules immunitaires et fibroblastiques qui renouvellent la matrice collagénique, sont primordiaux pour reformer de nouveaux vaisseaux de vascularisation et aboutir à une bonne cicatrisation des tissus grâce à l'apport d'oxygène et de nutriments.

La recherche sur la capacité cicatrisante de la grenade a montré sa faculté à induire une augmentation des facteurs de croissance endothéliaux vasculaires (VEGF) et les facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGF) dans une étude menée par Nirwana *et al.* sur des sujets animaliers ayant subi une avulsion dentaire (Nirwana *et al.* 2017). Après analyse immunohistochimique des prélèvements mandibulaires de cette étude, il a été constaté que l'application de 0,1mL d'un gel de grenade à 2,5% dans l'alvéole de l'incisive mandibulaire gauche, suturée ensuite au fil non résorbable, a provoqué une élévation du taux de VEGF et PDGF au quatrième jour comparativement à l'application d'un gel de carboxyméthyl cellulose de sodium à 3% (placebo).

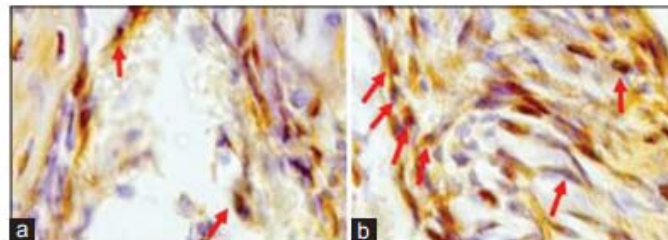


Figure-1: Vascular endothelial growth factor expressions in the control group (a) and in the treatment group (b).

Figure 43 : Coupes histologiques d'alvéoles révélant les cellules exprimant le VEGF dans le groupe contrôle avec gel placebo (a) et le groupe expérimental avec gel de grenade (b)

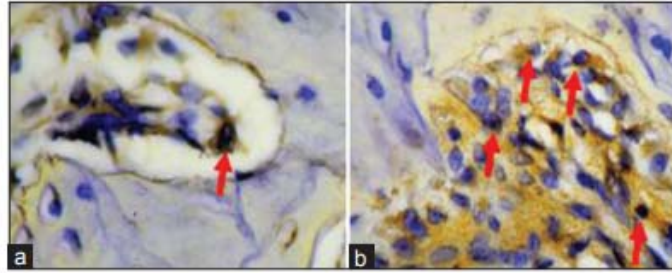


Figure-2: Platelet-derived growth factor expressions in the control group (a) and in the treatment group (b).

Figure 44 : Coupes histologiques d'alvéoles révélant les cellules exprimant le PDGF dans le groupe contrôle (a) et le groupe expérimental (b)

(Source : (Nirwana *et al.*, 2017))

L'angiogenèse étant essentielle à la cicatrisation d'une plaie, l'augmentation de PDGF, de VEGF et du nombre de macrophages objectivée dans l'étude par l'utilisation du gel de grenade prouve l'effet pro-angiogénique et par conséquent cicatrisant du fruit.

La cicatrisation post-extractionnelle peut se compliquer ou prendre plus de temps en fonction de divers facteurs (tabac, comorbidité, hygiène bucco-dentaire insuffisante), laissant place à un processus inflammatoire plus important, voire une infection. Si les ROS produits par les cellules réparatrices (fibroblastes, neutrophiles, macrophages et cellules endothéliales) permettent la cicatrisation des tissus en induisant la signalisation de l'inflammation, une production excessive de ROS engendre au contraire un ralentissement de la cicatrisation et l'altération de cellules saines voisines, avec un excès de cytokines inflammatoires par activation de la kinase I κ B et de NF- κ B (facteur de transcription des gènes codant les médiateurs inflammatoires clés). Or, les composants de la grenade tels que la punicalagine et l'acide ellagique, inhibent l'activation de la kinase I κ B et par conséquent celle de NF- κ B, empêchant ainsi l'emballement du système inflammatoire et contribuant à la bonne cicatrisation de la plaie (Nirwana *et al.* 2017).

Nirwana a réalisé une seconde expérience en utilisant les mêmes méthodes, afin d'identifier l'effet du gel de grenade sur les facteurs de croissance fibroblastiques-2 (FGF-2) et les facteurs de croissance transformant- β (TGF- β), dans la plaie post-opératoire de douze rongeurs au 4^e jour (Nirwana 2018). Le FGF-2 induit la production de collagène de type I en stimulant les fibroblastes, et le TGF- β régule et remodèle la

matrice extra-cellulaire, permettant tous deux la réparation des tissus lésés et la formation de tissu de granulation. Le comptage des cellules macrophagiques marquées dans le groupe traité au gel de grenade a présenté une plus forte expression de FGF-2 et de TGF- β par rapport au groupe contrôle avec le gel de carboxyméthyl cellulose de sodium, ceci de manière significative (Figure 26).

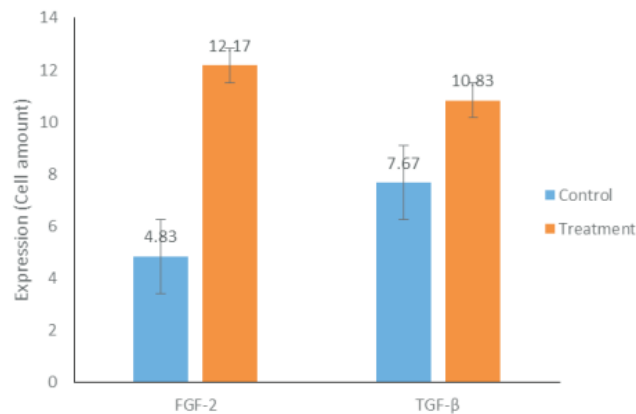


Figure 3. FGF-2 and TGF- β expression of control and treatment groups.

Figure 45 : Taux moyens d'expression des facteurs FGF-2 et TGF- β dans le groupe expérimental avec gel de grenade (orange) et le groupe contrôle avec gel placebo (bleu)

(Source : (Nirwana, 2018))

Ces travaux démontrent le potentiel de la grenade à stimuler le processus de cicatrisation.

❖ Cancérologie

Une propriété anticancérogène est notamment attribuée à la grenade et ses composants. Des travaux ont montré qu'une limitation de la croissance et de la prolifération de cellules cancéreuses ainsi qu'une induction de l'apoptose ont été objectivés par un extrait de grenade enrichi à 40% d'acide ellagique (Hernawati 2013). Les processus métastatiques des cellules orales cancéreuses sont impactés par les composants de la grenade, au niveau de la migration, de l'invasion et de la prolifération cellulaire. Un effet antiprolifératif a été décrit, avec un stress oxydatif provoqué dans les cellules cancéreuses pulmonaires, du sein, de fibrosarcomes, de leucémies, et récemment dans les cellules cancéreuses orales, par une haute dose d'extrait de

grenade, standardisé en composition d'ellagitanins (Peng *et al.* 2021). Au contraire, une faible dose (cytotoxique) d'extrait standardisé peut inhiber le stress oxydatif cellulaire, par exemple au niveau des kératinocytes HaCat soumis aux rayonnements UVB.

En effet, Hernawati a étudié le potentiel des composants de la grenade à limiter le développement des cellules malignes épithéliales dans les lésions de la cavité orale (Hernawati, 2013). Ces cellules sont à l'origine de l'apparition de carcinome épidermoïde au niveau buccal, au caractère invasif, lors de lésions des muqueuses. Le proto-oncogène Bcl-2, inhibiteur de l'apoptose cellulaire, participe à la survie de cellules malignes épithéliales et du développement du carcinome, en supprimant les protéines pro-apoptotiques Bax et c-myc, et en contrôlant la cascade des caspases. L'acide ellagique présente une piste thérapeutique potentielle à analyser, malgré une solubilité faible et par conséquent une faible concentration plasmatique *in vivo*. Hernawati a donc voulu étudier l'effet de l'acide ellagique et de l'extrait de grenade dans sa globalité, en supposant que l'ensemble des composés bioactifs de l'extrait permettraient une meilleure absorption et une concentration plasmatique *in vivo* minimale pour agir contre les cellules malignes épithéliales. Préalablement soumis à une exposition orale au benzopyrène pour induire des cellules épithéliales malignes induisant un carcinome épidermoïde, les trente-deux rongeurs testés de cette étude ont ensuite été répartis en quatre groupes, l'un non exposé au benzopyrène, l'un exposé mais non traité, l'un exposé et traité à l'acide ellagique, et le dernier exposé mais traité à l'extrait de grenade standardisé à 40% d'acide ellagique. L'analyse immunohistochimique a mis en évidence une diminution éloquentes de l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 au niveau des cellules épithéliales malignes orales dans le groupe traité par l'extrait de grenade par rapport aux autres groupes (sauf témoin négatif non exposé au benzopyrène). L'extrait d'acide ellagique a également permis une baisse de Bcl-2 mais moindre. Il en ressort une capacité des composants bioactifs de la grenade à favoriser l'apoptose des cellules épithéliales malignes orales en inhibant l'expression de Bcl-2 de manière plus probante que l'acide ellagique seul.

Peng *et al.* ont également contribué à la recherche sur les propriétés anticancéreuses de la grenade en menant une étude sur son pouvoir à moduler la capacité métastatique des cellules cancéreuses orales dans leur étude *in vitro* en 2020 (Peng

et al. 2020). En effet, les principes de la métastase se composent de l'angiogenèse, la migration, l'invasion et de la prolifération des cellules cancéreuses.

Grâce à une viabilité supérieure à 80% des cellules cancéreuses soumises à une concentration peu cytotoxique de POMx (25 et 50µg/mL), l'effet sur la migration et l'invasion a pu être étudié : la migration en 2D des cellules cancéreuses objectivée par le test de migration a démontré une infériorité face aux cellules normales jusqu'à 16 heures, de manière dose-dépendante, pour augmenter après par rapport au groupe contrôle. L'extrait POMx a donc inhibé leur migration. De plus, les tests d'invasion et de migration Transwell® en 3D ont indiqué une forte inhibition dans les lignées cancéreuses par POMx, de manière dose-dépendante également. Les résultats ont objectivé une inhibition notable de l'expression et de l'activité des métalloprotéinases MMP-2 et MMP-9 dans les lignées cancéreuses, proportionnelle à la durée d'exposition et à la concentration de POMx, connues pour favoriser et réguler la migration et l'invasion cellulaire. L'analyse d'expression d'ARNm et de protéines de gènes liés à la transition épithélio-mésenchymateuse a révélé une inhibition dans les lignées cancéreuses par rapport au groupe contrôle, avec un pic à 24 heures d'exposition et de manière dose-dépendante, prouvant la capacité de l'extrait POMx à inhiber la signalisation de transition épithélio-mésenchymateuse, même à de faibles concentrations. En revanche, il est constaté que POMx est capable de favoriser l'activation de la protéine ERK (responsable de prolifération cellulaire) mais d'inhiber celle de p38 et de JNK, jouant toutes un rôle dans la signalisation de la TEM. Un inhibiteur de ERK mis en place, capable de réactiver l'activité des métalloprotéinases, a prouvé la capacité de POMx à réguler la migration cellulaire des lignées cancéreuses par la régulation positive de ERK. En résumé, des faibles concentrations cytotoxiques d'extrait de POMx (25 et 50µg/mL) aurait un potentiel anti-métastatique dans les cancers oraux, en permettant une inhibition *in vitro* dans les lignées cellulaires cancéreuses de la migration, de l'invasion, en diminuant l'expression et l'activité des métalloprotéinases, ainsi que l'expression des ARNm et protéines de gènes liés à la transition épithélio-mésenchymateuse et en favorisant la signalisation de ERK, de manière significative en comparaison avec la lignée cellulaire normale.

Peng *et al.* ont également travaillé sur le l'extrait de grenade et son potentiel d'induction de l'apoptose et du dysfonctionnement mitochondriale des cellules cancéreuses orales (Peng *et al.* 2021). La source d'énergie et de stress oxydatif cellulaire est la mitochondrie, qui régule ainsi la prolifération et la mort programmée de la cellule. Dans l'étude présente, Peng *et al.* ont donc analysé la capacité de l'extrait de grenade standardisé à engendrer un stress oxydatif mitochondrial provoquant l'apoptose des cellules cancéreuses orales, et de ce fait un effet antiprolifératif.

La teneur en composants bioactifs de l'extrait aqueux de grenade utilisé (POMx), standardisé en polyphénols, se compose, par ordre croissant, de punicaline (8,375mg/g), de punicalagine (26,582mg/g) et d'acide ellagique (47,857mg/g). Les résultats suite à l'exposition de trois lignées de cellules cancéreuses (HSC-3, OC-2 et Ca9-22) et une lignée cellulaire normale (HGF-1) à l'extrait POMx ont révélé une diminution de la viabilité des lignées cancéreuses lorsque la concentration de l'extrait augmente, avec un net affaiblissement entre 12 et 72 heures d'exposition, par rapport à la lignée cellulaire normale exposée qui ne subit qu'une très faible baisse de viabilité (Figure 29 images A et B). Accompagnée d'un changement de morphologie cellulaire des lignées cancéreuses (Cf. Figure 29 image C), cette chute de viabilité cellulaire prouve donc la capacité des composants de la grenade à induire un effet antiprolifératif notable aux cellules cancéreuses orales mais très négligeable aux cellules saines.

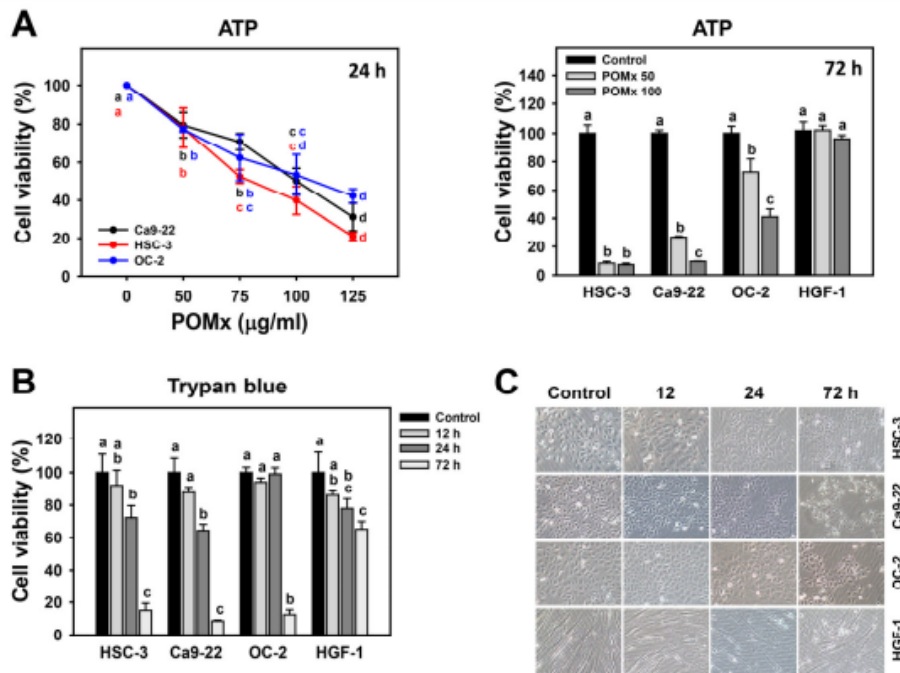


Figure 2. Cell viability and morphology of oral cancer cells after POMx incubation. Cells were incubated with 0, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$ of POMx (control, POMx 50, and POMx 100) or other indicated concentrations for 24 or 72 h. (A) Cell viability for three oral cancer cell lines (HSC-3, Ca9-22, and OC-2) at 24 h and 72 h ATP assays. (B) Cell viability for three oral cancer cell lines (HSC-3, Ca9-22, and OC-2), and a normal oral cell line (HGF-1) at 0, 12, 24, and 72 h trypan blue assays. (C) Morphology for oral cancer cells and normal oral cells at 0, 12, 24, and 72 h for 100 $\mu\text{g/mL}$ POMx incubation. Treatments without overlapping low cases (a to d) are significant differences for the same cell lines. $p < 0.05$. Data, mean \pm SD ($n = 3$). The morphology image was photographed at 100 \times magnification.

Figure 46 : Évaluation de la viabilité cellulaire à plusieurs concentrations de POMx (0 à 125 $\mu\text{g/mL}$) dans les trois lignées cellulaires cancéreuses (image A), à 12, 24 et 72heures (image B) en comparaison avec la lignée cellulaire normale, et comparaison de la morphologie cellulaire (image C)

(Source : (Peng *et al.*, 2021))

Entre 24 et 72heures d'incubation, on note une perturbation des phases du cycle cellulaire induite par POMx de façon différentielle dans toutes les lignées cancéreuses en comparaison avec la lignée normale, avec une forte accumulation en phase sub-G1 apoptotique pour la lignée HSC-3 à 72heures, et une diminution de phase G1 avec une augmentation de sub-G1 et G2/M pour les lignées Ca9-2 et OC-2. La coloration par annexine a mis en évidence un taux d'apoptose plus élevé dans les lignées cancéreuses que la lignée normale. Une diminution de protéines anti-apoptotiques (comme Bcl-2, Bcl-xL), une augmentation de protéines pro-apoptotiques (BAX) ainsi qu'une diminution de l'autophagie cellulaire en fonction du temps ont été objectivés dans les lignées cancéreuses par rapport à la lignée normale, montrant la régulation entre apoptose et autophagie induites par l'extrait de grenade. On remarque

également l'augmentation significative de la dynamique du potentiel de membrane mitochondrial dans les lignées cancéreuses par rapport à HGF-1, avec le temps et de façon dose-dépendante, démontrant la perturbation destructrice induite par POMx. La génération de superoxyde mitochondrial (mitoSOX) a augmenté de la même façon dans les lignées cancéreuses alors qu'elle est stable dans la lignée HGF-1. Une réduction à 24 heures de l'expression de certains gènes antioxydants est notable dans chaque lignée cancéreuse comparé à la lignée HGF-1 et sans atteinte des protéines antioxydantes, puis une suppression de l'expression de gènes et de protéines ont été mis en exergue à 72 heures dans certaines lignées cancéreuses (HSC-3 et OC-2), sans effet sur la lignée normale HGF-1. La masse mitochondriale mesurée a notamment diminué à 12 et 24 heures dans les lignées cancéreuses par rapport à la lignée HGF-1, pour finir par augmenter à 72 heures. La quantification des protéines résidentes mitochondriales est différentielle à 72 heures par rapport à la lignée HGF-1, avec l'augmentation de l'une d'elle. Une diminution de nombre de copies d'ADNmt dans les trois lignées cancéreuses a été noté par rapport à HGF-1, de façon dose-dépendante, avec des dommages à l'ADNmt remarquablement plus élevés, ainsi qu'une baisse de l'expression de l'ARNm des gènes liés à la biogenèse mitochondrial et des protéines associées. Pour finir, une saisissante augmentation de dommages à l'ADN nucléaire des cellules cancéreuses orales testées est objectivée par rapport à la lignée HGF-1. L'extrait de grenade standardisé est donc capable d'induire l'antiprolifération et la mort cellulaire sélective de certaines lignées de cellules cancéreuses, en causant un stress oxydatif et une déficience du fonctionnement mitochondrial, en générant une perturbation du potentiel de membrane mitochondriale, la régulation négative de leur copies d'ADNmt, d'expression de gènes antioxydants et de protéines associées, de la masse mitochondriale et de la biogenèse mitochondriale, ainsi que l'endommagement de ADN mitochondrial et nucléaire. Il n'a en revanche montré aucune toxicité significative au niveau des cellules orales saines, tout comme les études antérieures portées sur l'effet de la grenade sur d'autres cancers (prostate, poumon, côlon).

Par ailleurs, un rôle préventif contre les effets secondaires liés au traitement par radiothérapie des cancers de la tête et du cou est aussi attribué à la grenade. L'activité antioxydante des polyphénols bioactifs, par piégeage de radicaux libres et induction

d'enzymes antioxydantes, seraient à l'origine de l'effet radio-protecteur contre la mucite et la dermatite, cette dernière étant déjà décrite comme protectrice contre les dommages consécutifs aux rayonnements UVA et UVB sur les fibroblastes du derme (Thotambailu *et al.* 2019).

En effet, une étude menée sur soixante patients atteints de carcinome épidermoïde de la cavité orale, du larynx ou du pharynx, a révélé qu'un traitement par ingestion de gélules de 300mg composées d'extrait de grenade (27% de punicalagine et 40% d'autres composé phénoliques), à raison de deux fois par jour pendant 6 semaines, concomitant au traitement par radiothérapie, a diminué le score de mucite et de dermatite présentée par les patients par rapport au traitement par placebo (Thotambailu *et al.* 2019).

Table 3 Results at 6 weeks of radiotherapy

Grade	Study group	Control group
Mucositis ($\chi^2 = 34.57, p < 0.0001$)		
0	01	00
1	11	0
2	15	05
3	03	20
4	00	05
Dermatitis ($\chi^2 = 33.71, p < 0.0001$)		
0	00	00
1	12	00
2	12	02
3	05	19
4	01	09

Figure 47 : Scores de mucosite et de dermatite obtenus dans le groupe expérimental et le groupe témoin après 6 semaines de traitement

(Source : (Thotambaïlu *et al.*, 2019))

Plus de 85% des patients traités par extrait de grenade ont présenté des scores 1 et 2 de mucite, procurant une douleur légère à modérée avec des plaques inflammatoires parsemées, alors que 65% des patients traités par placebo ont présenté un score 3, procurant une douleur sévère avec une mucite fibreuse confluyente. Le score de dermatite chez 80% des patients du groupe expérimental était de 1 et 2, alors que le score chez 63% des patients du groupe témoin était de 3, et de 4 pour 30% d'entre eux.

La composition biochimique de la grenade peut donc s'avérer prometteuse pour innover un produit radio-protecteur pharmaceutique, naturel et rentable.

❖ **Activité antivirale**

Enfin, la grenade possède un pouvoir antiviral, attribué aux tannins hydrolysables, majoritairement la punicalagine, et aux anthocyanines. Sa capacité à réduire l'infectivité virale, la liaison des virus aux cellules hôtes, ainsi qu'à induire des dommages structurels viraux lui offrent un moyen d'agir sur le virus de la grippe A, de l'herpès (HSV), les norovirus ou encore le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). En effet, l'infection par le virus de l'herpès HSV-2 est inhibée *in vitro* par la proanthocyanidine A-1 contenue dans la peau de grenade, et la liaison du virus du VIH-1 aux récepteurs CD4 et CXCR4/CCR5 des cellules hôtes est bloquée par les polyphénols dont la punicalagine (Howell et D'Souza 2013). La littérature décrit également des effets antiviraux *in vitro* attribués à la punicalagine qui inhibe l'infection du virus de l'hépatite C, du cytomégalovirus, du virus de la dengue, de la rougeole et du virus respiratoire syncytial (Lin *et al.* 2013).

HSV-1 est majoritairement responsable de l'herpès labial, se manifestant par l'apparition de boutons de fièvres ; HSV-2 l'est dans de plus rares cas. L'apparition de résistance au traitement antiviral de référence qu'est l'aciclovir, dont l'action est virustatique, a poussé Houston *et al.* à analyser *in vitro* le potentiel antiviral de la grenade et ses composants, associés à différents sels de zinc. L'activité inhibitrice de l'extrait de grenade sur l'élastase des leucocytes et sur l' α -glucosidase, déjà démontrée, pourrait altérer les glycoprotéines virales et ainsi empêcher la fixation du virus au récepteur de la cellule-cible et sa pénétration cellulaire.

L'étude de Houston *et al.* a mis en évidence le potentiel synergique de l'association de l'extrait de grenade (PRE) avec les sels de zinc au niveau de l'activité virucide contre HSV-1, d'efficacité semblable entre chaque combinaison, alors que l'activité seule de l'extrait PRE était très faible, et presque inexistante pour les sels de zinc isolés (Houston *et al.* 2017). L'ion zinc (II) en solution permet donc la potentialisation de l'effet virucide de la grenade.

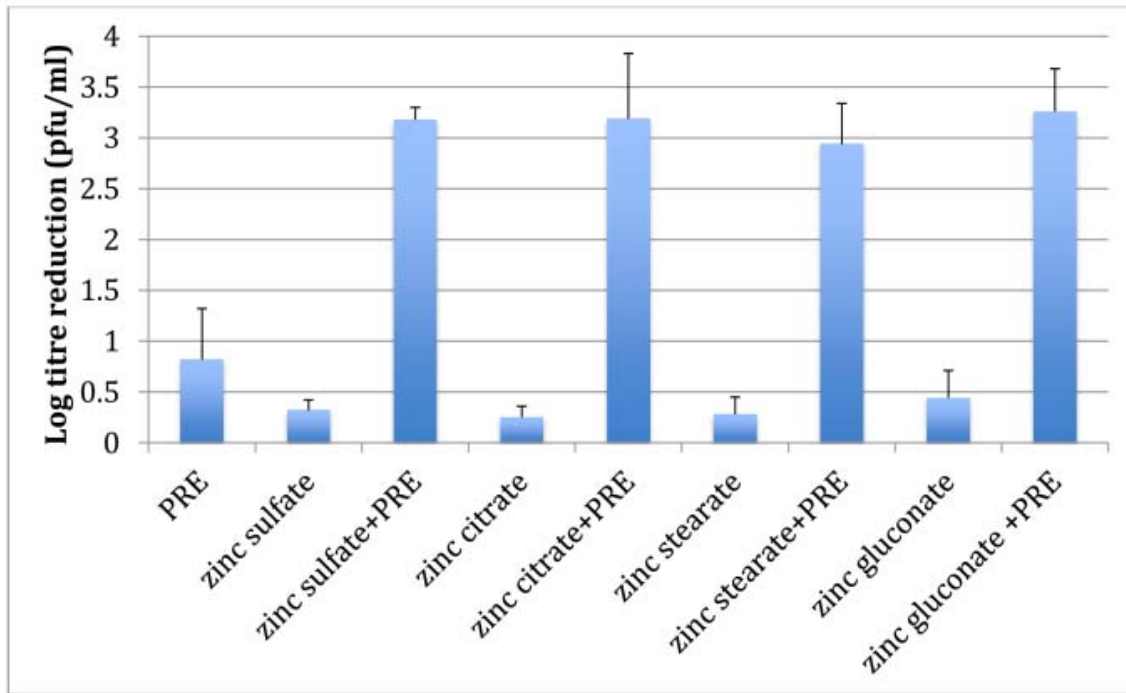


Fig 1. Virucidal log reduction data for the addition of PRE (0.05 mg mL^{-1}) alone and when co-administered with a range of Zn (II) salts (0.5 mM) to HSV-1 ($n = 3 \pm \text{SD}$). Results show the same potentiated activity for zinc sulphate, zinc citrate zinc stearate and zinc gluconate ($p < 0.05$); thus confirming that zinc ions were responsible for the observed potentiated virucidal activity. However, zinc nitrate and zinc iodide both showed toxicity to the Vero host cells, whereas zinc oxide had limited solubility.

Figure 48 : Activité virucide contre HSV-1 par l'extrait de grenade seul, le sulfate de zinc seul, et l'association de l'extrait de grenade avec les différents sels de zinc

(Source : (Houston *et al.*, 2017))

La co-administration d'extrait de grenade avec le sulfate de zinc, le citrate de zinc, le stearate de zinc et le gluconate de zinc n'a pas montré de cytotoxicité cellulaire dans les cultures Vero. Une augmentation de l'activité virucide de l'extrait PRE est notable avec l'augmentation de la concentration de sulfate de zinc co-administré jusqu'à $1,44 \text{ mg/mL}$, pour laisser place à une efficacité incertaine et globalement régressive au-delà. De plus, les résultats révèlent que la punicalagine seule a une activité virucide 7,8 fois plus élevée que l'extrait de grenade à masse équivalente et à la concentration de $0,05 \text{ mg/mL}$ (avec une réduction de HSV-1 de 5,93 et 0,76 respectivement), et 46 fois plus élevée à la concentration de $0,01 \text{ mg/mL}$ (réduction de HSV-1 de 2,4 et 0,052 respectivement). L'activité virucide peut donc être attribuée majoritairement à la punicalagine contenue dans l'extrait de grenade, qu'elle compose à hauteur de 20%, bien qu'elle soit compromise par d'autres composants du fruit. Combinée au sulfate de zinc, l'activité virucide contre HSV-1 de la punicalagine est potentialisée mais jusqu'à une certaine concentration. En effet, la réduction de HSV-1 est passée de 2,4 à 4,6 pour une concentration de punicalagine de $0,01 \text{ mg/mL}$, avec la co-administration

de sulfate de zinc à des concentrations de 0,0 et de 0,14 mg/mL respectivement. Au-delà de 0,14mg/mL, l'activité virucide régresse pour devenir ensuite incertaine, comme vu avec l'extrait PRE. L'activité de l'acide ellagique seul ne s'est en revanche pas montrée significativement plus efficace que la solution témoin contre HSV-1.

L'activité antivirale, c'est-à-dire l'inhibition de la réplication virale, est la plus efficace contre HSV-1 pour l'aciclovir, suivi de très près par l'extrait PRE combiné avec le sulfate de zinc et le PRE seul de façon semblable, comme le montre la figure ci-dessous présentant les résultats des concentrations inhibitrices médianes.

Table 2. The antiviral IC₅₀ against *Herpes simplex virus-1* (HSV-1) and acyclovir-resistant *Herpes simplex virus* (HSV-ACR) of PRE, punicalagin, ZnSO₄ and ellagic acid in comparison to aciclovir (n = 3 ± SD). Note: IC₅₀ concentration of PRE is in units of mass mL⁻¹ rather than µM as it is a complex mixture of compounds.

Challenge	MW	Virus	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	IC ₅₀ (µM)
PRE + ZnSO ₄	N/A	HSV-1	0.550 ± 0.062	N/A
PRE	N/A	HSV-1	0.560 ± 0.039	N/A
		HSV-ACR	0.016 ± 0.009	N/A
Punicalagin	1084.7	HSV-1	≥108.47	≥100
		HSV-ACR	≥108.47	≥100
Ellagic acid	302.2	HSV-1	≥30.22	≥100
		HSV-ACR	≥30.22	≥100
ZnSO ₄	161.47	HSV-1	≥16.15	≥100
		HSV-ACR	≥16.15	≥100
Aciclovir	225.21	HSV-1	0.182	0.81 ± 0.03
		HSV-ACR	≥22.52	≥100

Figure 49 : Concentration inhibitrice médiane de l'extrait de grenade, du sulfate de zinc, de leur combinaison, de la punicalagine, de l'acide ellagique et de l'aciclovir, contre HSV-1 et HSV résistant à l'aciclovir

(Source : (Houston *et al.*, 2017))

Contre HSV-ACR, virus résistant à l'aciclovir, l'extrait PRE montre une efficacité remarquablement supérieure à tous les autres composés testés. L'activité antivirale de l'extrait de grenade n'est visiblement pas due à la simple action de la punicalagine, inefficace pour inhiber la réplication virale isolément, mais à l'association d'autres composants contenus dans l'extrait. Le supplément de sulfate de zinc n'a pas potentialisé l'activité antivirale de l'extrait PRE. Les concentrations testées de l'extrait de PRE et de sulfate de zinc n'ont engendré aucune cytotoxicité dans les cultures cellulaires.

L'interaction des tanins avec le zinc a donc permis une activité virucide potentialisée contre le virus de l'herpès, mais dépendante de la concentration et ceci de manière contre-intuitive. Une trop forte concentration de zinc pourrait être susceptible de former des complexes avec d'autres composants que la punicalagine et autres tanins de

l'extrait de grenade, et les empêcher d'agir au niveau de la surface virale avec le zinc. La diminution d'efficacité virucide au-delà d'une concentration seuil de sulfate de zinc peut aussi supposer une compétition pour un site de liaison ou une protéine spécifique. Les modes d'action virucides des tanins de la grenade sur HSV-1 restent à élucider. Les composants de la grenade pourraient donc offrir une stratégie thérapeutique prometteuse contre le virus de l'herpès HSV-1 en association avec le zinc, et contre le virus de l'herpès résistant à l'aciclovir en présentant une activité antivirale encourageante *in vitro*, sans complément de zinc.

Tableau 5 : Études sur l'efficacité de la grenade et ses composants en dermatologie

Auteur, date, référence	Objectif	Méthode	Résultats	Conclusion
Promsong <i>et al.</i> , 2015	Effet <i>in vitro</i> de l'acide ellagique, composant de la grenade, sur l'immunité innée de la muqueuse orale	Cultures de cellules épithéliales gingivales humaines exposées à différentes concentrations d'acide ellagique et mesure des taux d'expression génique des médiateurs de l'immunité innée (hBD-2, SLPI, des cytokines et chimiokines), en comparaison avec des cultures témoins non traitées	Dans les cultures exposées à l'acide ellagique, par rapport au témoin non traité : <ul style="list-style-type: none"> • Augmentation significative d'expression de hBD-2 et SLPI ($p < 0,01$) • Augmentation d'expression de RANTES (significative $p < 0,01$), d'IL-1β (non significative), et d'IL-2 à 12,5μM d'acide ellagique et diminution à 50μM (significatives $p < 0,01$) • Diminution d'expression d'IL-6, TNF-α (non significatifs) et d'IL-8 (significatif $p < 0,05$) • Stabilité d'IL-4 et MPC-1 (Cf. Figure 14)	Acide ellagique efficacité relative pour renforcer l'immunité innée des muqueuses orales et pour envisager de prévenir/traiter les pathologies buccales à médiation immunitaire
Bassiri-Jahromi <i>et al.</i> , 2018	Évaluer l'activité antifongique <i>in vivo</i> de la grenade contre la candidose orale, en comparaison avec l'antibiotique nystatine	Comparaison sur 35 rats de laboratoire immunodéprimés et infectés par <i>Candida albicans</i> de l'efficacité thérapeutique entre l'extrait de grenade à différentes concentrations, et la nystatine (traitement de référence)	Guérison complète à J15 chez tous les sujets avec le traitement à l'extrait de grenade et à toutes les concentrations testées (500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL), et supérieure à J5 avec une concentration de 500 μ g/mL, comparativement à la guérison chez les sujets traités à la nystatine équivalente à 80% à j15, mais différence non significative. (Cf. Figure 15)	Grenade bonne efficacité pour lutter contre la candidose orale induite, équivalente voire supérieure à la nystatine
Santos <i>et al.</i> , 2017	Évaluer <i>in vivo</i> l'efficacité d'un gel à base de grenade comparé à un gel de miconazole pour prévenir l'apparition de candidose sur des patients subissant radiothérapie +/- chimiothérapie, pour carcinome épidermoïde	Comparaison sur 17 patients de l'apparition de candidose buccale par examen clinique au cours du traitement par radiothérapie, entre le groupe expérimental appliquant le gel de grenade à 6,25%, et le groupe appliquant le gel de miconazole à 2%, le tout 4fois par jour.	<ul style="list-style-type: none"> • 63,6% des patients appliquant le gel de grenade n'ont pas développé de candidose. • 100% des patients appliquant le gel de miconazole n'ont pas développé de candidose. ($p < 0,05$ dans chacun des groupes) (Cf. Figure 16)	Grenade assez efficace sous forme de gel pour prévenir l'apparition de candidose chez les patients recevant de la radiothérapie, mais moindre que le gel de miconazole

Kumar et al., 2020	Évaluer <i>in vitro</i> l'activité antifongique d'extrait de peau de grenade contre <i>Candida albicans</i> , en comparaison avec le clotrimazole	Comparaison des capacités d'inhibition de <i>Candida albicans</i> , sur plaque de gélose avec prélèvement salivaire sur 60 patients atteints de candidose, soumis à un extrait de grenade selon diverses concentrations (10µg à 200µg), et à du clotrimazole	<ul style="list-style-type: none"> • Capacité d'inhibition de <i>Candida albicans</i> significativement efficace à chaque concentration testée et proche entre l'extrait de grenade et le clotrimazole. • Augmentation de la zone d'inhibition avec la concentration de l'extrait de grenade • CMI semblable entre l'extrait de grenade et le clotrimazole <p>(Cf. Figure 17)</p>	Grenade efficace pour inhiber <i>in vitro</i> <i>Candida albicans</i> , au même titre que le clotrimazole
Batista da Silva et al., 2021	Évaluer l'effet <i>in vivo</i> de la grenade sur la stomatite dentaire, en comparaison avec la nystatine, la propolis et l' <i>Uncaria tomentosa</i> (ou Liane du Pérou)	Analyse mycologique des prélèvements effectués sur 30 patients porteurs de prothèses dentaire atteints de stomatite dentaire et comparaison des résultats entre les divers groupes : traité à l'eau distillée (groupe placebo), traité à la nystatine (groupe témoin positif), traité à la propolis, traité à la grenade et traité à l' <i>Uncaria tomentosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution importante et significative de la numération mycologique dans tous les groupes entre T0 (avant traitement) et T1 (au 14^e jour et fin du traitement) • Seul l'extrait de grenade a permis une diminution de la numération entre T1 et T2, (30jours après fin du traitement) de manière notable • Pas de différence intergroupe significative <p>(Cf. Figure 18)</p>	Grenade très bonne efficacité pour inhiber <i>Candida</i> chez patients porteurs de prothèses présentant stomatite dentaire, équivalent à la nystatine, en complément du brossage dentaire quotidien
Venante et al., 2021	Évaluer l'efficacité <i>in vitro</i> de prothèse dentaire composée de fibrine de biopolymère et d'extrait de grenade pour prévenir la colonisation de <i>Candida albicans</i>	Comparaison du taux de colonisation de <i>Candida albicans</i> sur les résines revêtues de fibrine polymères (FB), de fibrine polymère associée à l'extrait de grenade (FBPg), de fibrine polymère associée à la chlorhexidine (FBCh), et résine témoin non revêtue (CT), au bout de 24H, 48H et 72H	Inhibition éloquent de la croissance de <i>C. albicans</i> par les biopolymères de fibrines associés à la chlorhexidine (FBCh) et associés à l'extrait de grenade (FBPg), bien que moindre, à tous les intervalles de temps testés, avec diminution du comptage d'UFC de <i>C. albicans</i> et de l'activité cellulaire analysée par microscopie à balayage laser par rapport au matériau	Grenade efficace incorporée avec un biopolymère de fibrine dans la résine PMMA des prothèses dentaires pour prévenir l'adhésion et le développement de <i>C. albicans</i> et la stomatite dentaire
Almeida et al., 2018	Efficacité antifongique <i>in vitro</i> contre <i>Candida albicans</i> d'extrait de grenade combiné dans un adhésif pour prothèse dentaire	Après 3, 6 et 12 heures d'incubation, mesure de <i>C. albicans</i> par comptage des UFC, mesure de son activité métabolique, analyse structurale du biofilm par microscopie électronique à balayage (MEB) et analyse de la masse du biofilm par microscopie confocale à balayage laser (MCBL) des échantillons de résine polymérisée à chaud recouverts d'adhésif COREGA® incorporés aux extraits de grenade et d' <i>Equisetum</i>	Diminution significative de l'adhérence et du développement de <i>C. albicans</i> jusqu'à 12 heures sur la surface de la résine acrylique avec application d'adhésif/extrait de grenade combiné (AD/Pg) et d'adhésif/extrait d' <i>E. giganteum</i> combiné (AD/Eg) comparé à l'adhésif seul (AD) et à la résine non traitée par adhésif (PBS). Meilleure efficacité par la combinaison adhésif/Nystatine (AD/Nt) pour tous les intervalles de temps.	Grenade bonne alternative comme agent anti-microbien combiné dans un adhésif de surface de prothèse dentaire pour traiter temporairement la stomatite dentaire

		<i>giganteum</i> , d'adhésif seul, et d'échantillons de résine non traités	(Cf. Figure 27)	
Tavangar <i>et al.</i> , 2019	Efficacité <i>in vivo</i> de gel de grenade muco-adhésif sur la stomatite aphteuse récidivante mineure, en comparaison avec le gel Triadent	Comparaison du temps de guérison complète et du temps d'élimination de la douleur chez 60 patients atteints de stomatite aphteuse mineure, utilisant le gel à base de grenade dans le groupe expérimental, la pâte Triadent dans un autre groupe et un gel placebo dans le groupe témoin	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution du temps d'élimination de la douleur avec le gel à base de grenade par rapport au placebo ($p=0,002$) mais pas de différence significative avec le gel Triadent ($p=0,1$). Moyenne des durées en jours : <ul style="list-style-type: none"> ➤ Grenade : [3,85±1,26] ➤ Triadent : [4,55±1,27] ➤ Placebo : [5,25±1,11] • Diminution probante du temps de guérison complète avec le gel à base de grenade par rapport au placebo et au gel Triadent ($p<0,05$). Moyenne des durées en jours : <ul style="list-style-type: none"> ➤ Grenade : [5,05±0,99] ➤ Triadent : [5,75±1,08] ➤ Placebo : [6,5±1,05] 	Grenade efficace sous forme de gel pour traiter la stomatite aphteuse récidivante mineure
Gavanji <i>et al.</i> , 2014	Effet de la grenade <i>in vivo</i> sur la stomatite aphteuse récidivante mineure	Comparaison de la durée de traitement complet en mesurant la taille des lésions, et du degré de douleur sur 210 patients effectuant un bain de bouche avec les solutions expérimentales suivantes, 4 fois par jour, pendant 10 jours. <ul style="list-style-type: none"> ❖ Groupes A, B et C : extrait alcoolique de grenade ❖ Groupes D, E et F : extrait aqueux de grenade ❖ Groupe G : solution placebo, témoin négatif. 	Avec les extraits de grenade : <ul style="list-style-type: none"> • Réduction significative de la taille des lésions aphteuses • Diminution significative de la durée moyenne de rétablissement complet • Diminution parallèle du degré de douleur ressentie • Satisfaction des patients augmentée (Cf. Figures 21 et 22)	Grenade efficace pour accélérer le traitement de la stomatite aphteuse récidivante mineure et soulager les symptômes
Hernawati <i>et al.</i> , 2019	Effet de la grenade sur les ulcères traumatiques de la cavité buccale chez des sujets animaliers	Comparaison de la réduction de la taille des ulcères traumatiques et du temps de guérison total entre l'application de gel de grenade à des concentrations de 12,5%, 25%, 50%, 75%, et l'application d'un gel d'acétonide de triamcinolone (témoin positif) et l'application d'eau distillée (témoin négatif)	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution significative dans tous les groupes de la taille des ulcères et du temps de guérison total • Réduction significative et meilleure de la surface des ulcères avec le gel de grenade à 75% • Plus grande accélération du processus de guérison totale avec le gel de grenade à 75% (Cf. Figure 23)	Grenade efficace pour accélérer la guérison complète des ulcères traumatiques, bonne alternative à l'acétonide de triamcinolone

Nirwana <i>et al.</i> , 2017	Evaluer la capacité de la grenade à induire une hausse de facteurs de croissance vasculaire durant la cicatrisation post-extractionnelle	Mesure de l'expression du facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF) et du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) dans la plaie au 4 ^e jour après avulsion dentaire sur 12 cochons d'Inde, exposé soit à un extrait de grenade, soit à un gel placebo.	Taux plus élevé de facteurs VEGF et PDGF dans le groupe expérimental avec gel de grenade par rapport au groupe contrôle avec gel placebo ($p < 0,05$) : Moyenne des VEGF : ❖ Gel grenade : [22,33±3,077] ❖ Gel placebo : [14,50±2,258] Moyenne des PDGF : ❖ Gel grenade : [22,67±3,141] ❖ Gel placebo : [12,50±2,588]	Grenade efficace pour induire l'augmentation de marqueurs du processus de cicatrisation (VEGF et PDGF) sur plaie post-extractionnelle
Nirwana, 2018	Évaluer la capacité de la grenade à induire une hausse de facteurs de croissance durant la cicatrisation post-extractionnelle	Mesure de l'expression des facteurs FGF-2 et TGF-β dans la plaie au 4 ^e jour après avulsion dentaire sur 12 rongeurs, exposés soit à un extrait de grenade, soit à un gel placebo	Taux significativement plus élevé de facteurs FGF-2 et TGF-β dans le groupe expérimental avec gel de grenade par rapport au groupe contrôle avec gel placebo ($p < 0,05$) : Moyenne des FGF-2 : • Gel grenade : [12,17±2,137] • Gel placebo : [4,83±1,941] Moyenne des TGF-β : • Gel grenade : [10,83±2,994] • Gel placebo : [7,67±1,211]	Grenade efficace pour induire l'augmentation de marqueurs de cicatrisation (FGF-2 et TGF-β) sur plaie post-extractionnelle
Hernawati, 2013	Effet <i>in vivo</i> de la grenade et son composant l'acide ellagique, sur l'expression de Bcl-2, inhibiteur de l'apoptose, des cellules malignes épithéliales dans les lésions de la muqueuse orale	Comparaison de l'expression de Bcl-2 des cellules malignes épithéliales buccales par analyse immunohistochimique sur 32 rongeurs, répartis en deux groupes exposés au benzopyrène et traités à l'extrait de grenade (P2) et à l'acide ellagique (P1), administré par voie orale pendant 4 semaines, un groupe non traité et exposé au benzopyrène seul (K1), et un groupe non exposé et non traité (K0),	Diminution significative de l'expression de Bcl-2 dans les cellules épithéliales malignes de rongeurs exposés au benzopyrène et traités par extrait de grenade (P2), plus accentuée que par traitement à l'acide ellagique (P1). Moyennes de cellules exprimant Bcl-2 : - K0 : [0,001 ± 0,001] - K1 : [0,367 ± 0,103] - P1 : [0,083 ± 0,075] - P2 : [0,016 ± 0,040]	Grenade efficace pour inhiber l'expression de Bcl-2 des cellules épithéliales malignes orales
Peng <i>et al.</i> , 2021	Évaluation <i>in vitro</i> du potentiel de la grenade à induire un dysfonctionnement mitochondrial et l'apoptose au niveau des cellules cancéreuses orales	Comparaison entre trois lignées cellulaires cancéreuses orales différentes et une lignée normale, soumise à différentes concentrations d'extrait de grenade standardisé (POMx) après 12, 24 et 72h d'incubation, par analyse : de viabilité cellulaire, du taux d'apoptose, des cycles cellulaires, de l'oxydation mitochondriale, de la dynamique du potentiel de membrane mitochondriale, de l'expression d'ARNm de	Diminution d'ATP, accumulation à la phase sub-G1 du cycle cellulaire et apoptose induite par l'extrait de grenade dans les trois lignées cellulaires testées. Perturbation de membrane mitochondriale avec superoxydation mitochondrial, et diminution d'expression ARNm de gènes/protéines antioxydants dans cellules cancéreuses.	Grenade capable de perturber le fonctionnement mitochondrial et induire l'apoptose de cellules cancéreuses orales

		gènes antioxydants et protéines antioxydantes, de la masse mitochondriale, du nombre de copies d'ADNmt, de la biogenèse mitochondriale, des dommages à l'ADN mitochondrial et nucléaire.	Masse mitochondriale réduite, copies d'ADN mitochondriale réduites et expression réduite d'ARNm/protéines des gènes de biogenèse mitochondriale dans cellules cancéreuses. Dommages induits à l'ADN mitochondrial et à l'ADN nucléaire des cellules cancéreuses.	
Peng <i>et al.</i> , 2020	Efficacité <i>in vitro</i> de la grenade sur la migration et l'invasion des cellules cancéreuses orales	Comparaison entre 4 lignées cellulaires cancéreuses orales cultivées et une lignée normale (HGF-1), soumises à l'extrait de grenade POMx, de la migration de cicatrisation (2D), la migration transwell® (3D) et l'invasion cellulaire dans la matrice de membrane basale, de l'activité des métalloprotéinases matricielle MMP-2 et MMP-9, de l'expression de gènes liés au signal de la transition épithélio-mésenchymateuse et de l'expression de protéines.	À faible concentration cytotoxique, POMx inhibe dans les lignées de cellules cancéreuses orales : - l'expression de métalloprotéinases MMP-2 et MMP-9 - l'expression de marqueurs de la signalisation de transition épithélio-mésenchymateuse, - la migration de cicatrisation - la migration transwell® et l'invasion des cellules, POMx favorise en revanche l'expression d'une MAP kinase (kinase ERK).	Grenade efficace pour inhiber <i>in vitro</i> la migration et l'invasion cellulaires des lignées cancéreuses orales, en supprimant l'activité des métalloprotéinases matricielles
Totambaïlu <i>et al.</i> , 2019	Évaluer <i>in vivo</i> le rôle protecteur de la grenade contre la mucite et dermatite induite par radiothérapie des cancers de la tête et du cou	Comparaison des scores de mucite et de dermatite chez des patients atteints de cancers de la cavité orale, du larynx et de pharynx, traités soit par extrait de grenade en gélule de 300mg à raison de deux fois par jour pendant 6 semaines, soit par placebo (témoin négatif),	Majorité de score 1 et 2 pour la mucite et pour la dermatite dans le groupe expérimental, et majorité de score 3 pour la mucite et la dermatite dans le groupe placebo, au bout de 6 semaines de traitement ($p < 0,05$) (Cf. Figure 38)	Grenade a un rôle protecteur efficace contre la mucite et la dermatite induite par radiothérapie dans le traitement des cancers de la tête et du cou
Houston <i>et al.</i> , 2017	Évaluer <i>in vitro</i> l'effet d'extrait de grenade en combinaison avec des sels de zinc sur <i>Herpes Simplex Virus</i> (HSV)	Comparaison de l'activité virucide et de l'activité antivirale dans les cultures de cellules épithéliales <i>Vero</i> infectées par HSV-1 et traitées par l'extrait de grenade (PRE), seul et en combinaison avec les sels de zinc, par le sulfate de zinc seul, par la punicalagine et par l'acide ellagique, et comparaison de leur activité antivirale contre HSV résistant à l'aciclovir	- Activité virucide potentialisée de PRE avec tous les sels de zinc de manière similaire (sulfate de zinc, citrate de zinc, stéarate de zinc et gluconate de zinc) contre HSV-1. La punicalagine a une activité virucide 8 fois supérieure à PRE, à masse équivalente. - Activité antivirale supérieure de PRE par rapport à la punicalagine et comparable à celle de l'aciclovir contre HSV-1, et efficace contre HSV résistant à l'aciclovir. Pas d'influence du sulfate de zinc sur l'activité antivirale. - Aucune cytotoxicité détectée (Cf. Figures 37 et 38)	Grenade efficace <i>in vitro</i> en combinaison avec les sels de zinc contre le virus de l'herpès HSV-1, et efficace seule contre le virus résistant à l'aciclovir

2.3. Synthèse des résultats sous forme de tableaux récapitulatifs

Tableau 6 : Récapitulatif des propriétés des composants de la grenade et leurs domaines d'application en médecine bucco-dentaire

Propriétés		Composants	Domaines d'application		Références
Antiseptique	Antibactérien	Punicalagine Acide gallique Catéchine Épigallocatechine	Hygiène	Efficace contre <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Staphylococcus aureus et epidermidis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> et <i>Parvimonas micra</i> .	(Abdollahzadeh <i>et al.</i> 2011) (Howell et D'Souza 2013) (Jacob <i>et al.</i> 2021)
			Hygiène	Anti-halitosique Modulation du pH salivaire	(Veloso <i>et al.</i> 2020) (Kadam <i>et al.</i> 2019) (Umar <i>et al.</i> 2016)
			Hygiène	Anti-plaque Anti-cariogénique	(Umar <i>et al.</i> 2016) (Sahgal <i>et al.</i> 2015) (Bhadbhade <i>et al.</i> 2011) (Gulube et Patel 2016) (Vahid-Dastjerdi <i>et al.</i> 2016)

			Endodontie	Solution d'irrigation endocanalaire	(Sisodiya <i>et al.</i> 2021) (Mallya <i>et al.</i> 2019) (Akbulut <i>et al.</i> 2019)
	Anti-fongique	Punicalagine Castalagine Acide ellagique Catéchine Gallocatéchine Granatine Quercétine Kaempférol	Dermatologie	Candidose orale, radio-induite ou non, Stomatite dentaire induite par le port de prothèse	(SANTOS <i>et al.</i> 2017; Almeida <i>et al.</i> 2018; Bassiri-Jahromi <i>et al.</i> 2018; Kumar <i>et al.</i> 2020; Batista da Silva <i>et al.</i> 2021; Venante <i>et al.</i> 2021)
	Anti-viral	Punicalagine Acide ellagique	Dermatologie	Virus <i>Herpes Simplex</i> 1 et résistant à l'aciclovir Virus de l'immunodéficience humaine VIH-1	(Houston <i>et al.</i> 2017)
Antioxydante	Punicalagine Acide ellagique (Tanins)	Odontologie conservatrice	Adhésion des restaurations après éclaircissement dentaire	(Suratno <i>et al.</i> 2021) (Mukka <i>et al.</i> 2016)	
		Dermatologie	Mucite et dermatite radio-induites	(Thotambailu <i>et al.</i> 2019)	
Anti-inflammatoire	Acide ellagique	Odontologie conservatrice	Coiffage pulpaire direct (inhibition de NF-kB)	(Nirwana <i>et al.</i> 2017)	

	Tanins	Parodontie	Poches parodontales Saignement au sondage	(Tyagi <i>et al.</i> 2021) (Howell et D'Souza 2013) (Ahuja <i>et al.</i> 2011)
Proliférative - Viabilité cellulaire	Punicalagine Acide ellagique (Tanins)	Odontologie conservatrice	Milieu de conservation des dents avulsées	(Tavassoli-Hojjati <i>et al.</i> 2014) (Babaji <i>et al.</i> 2017)
Immunomodulateur	Acide ellagique	Renforcement de l'immunité des cellules épithéliales buccales (contre la candidose orale, le lichen plan, VIH)		(Promsong <i>et al.</i> 2015)
Cicatrisant	Acide ellagique Anthocyanidine (Tanins)	Dermatologie	Stomatite aphteuse récurrente, Ulcères traumatiques, Plaie post-extractionnelle,	(Gavanji <i>et al.</i> 2014; Hernawati <i>et al.</i> 2019; Tavangar <i>et al.</i> 2019) (Nirwana <i>et al.</i> 2017)
Anti-cancéreux	Punicalagine Punicaline Acide ellagique	Stimulation de l'apoptose des cellules épithéliales malignes orales, induction du dysfonctionnement mitochondrial, inhibition de la migration et de l'invasion dans le processus métastatique		(Hernawati 2013; Peng <i>et al.</i> 2020, 2021)

CONCLUSION

L'étude de la grenade, intéressant de plus en plus les scientifiques dans le domaine médical, s'avère prometteuse pour ses multiples propriétés : antioxydantes, antiseptiques, anti-inflammatoires, antivirales, antihypertensives, antidiabétiques mais aussi anti-cancéreuses. Les principaux composés responsables de ces effets sont les polyphénols, dont la punicalagine (tanin hydrolysable), l'acide ellagique et l'acide gallique (acides phénoliques) essentiellement.

La réalisation de ce travail a permis de mettre en évidence l'étendue des bienfaits thérapeutiques issus de ce fruit dans le domaine de la médecine bucco-dentaire, notamment en hygiène orale pour son pouvoir antibactérien contre les micro-organismes communément retrouvés dans la plaque dentaire et les infections bucco-dentaires. L'extrait de grenade apparaît bénéfique lorsqu'il est utilisé sous forme de bain de bouche pour contrer l'halitose en diminuant le taux de composés sulfurés volatils, et moduler le pH salivaire. Il permettrait ainsi un effet préventif anti-cariogénique et anti-plaque.

Il serait profitable également en odontologie conservatrice, pour renforcer l'adhésion des restaurations adhésives sur les dents préalablement éclaircies au peroxyde d'hydrogène grâce à son pouvoir antioxydant. En tant que matériau de coiffage pulpaire direct, le gel à base de grenade permettrait un effet anti-inflammatoire en diminuant le taux de facteur NF- κ B au niveau pulpaire. De plus, il offre une action antibactérienne contre certaines espèces pathogènes du système endo-canalair. Son efficacité en tant que solution d'irrigation canalair est potentialisée lorsqu'il est associé à la chlorhexidine. Le vinaigre de grenade augmenterait la rugosité de la dentine canalair tout en diminuant sa microdureté. S'y ajoute une capacité du jus de grenade à maintenir voire augmenter la viabilité et la prolifération des cellules desmodontales de dents avulsées. Il pourrait de ce fait présenter un milieu de stockage naturel, offrant une alternative intéressante à la solution saline équilibrée de Hank très onéreuse.

Dans le domaine de la parodontologie, l'application de gel et de copeaux sous-gingivaux à base de grenade apporterait un bénéfice quant à l'indice gingival, à la

profondeur de poche et à l'attache clinique en cas de poches parodontales avérées. Suite à un traitement mécanique par détartrage et surfaçage, l'utilisation de la grenade en solution de rinçage peut se révéler aussi voire plus efficace que la chlorhexidine pour diminuer l'inflammation gingivale chez les patients atteints de gingivite chronique, en présentant une meilleure action styptique. Une amélioration des paramètres cliniques parodontaux est notable, et s'accompagne d'un contrôle des médiateurs de l'inflammation gingivale. Ces bénéfices au niveau de la santé parodontale se sont avérés d'autant plus efficaces en cas de diabète.

Les vertus de la grenade se mettent également au service de la dermatologie buccale. Son rôle dans la prévention ou le traitement de pathologies buccales à médiation immunitaire est à étudier davantage, au vu de l'aptitude de l'acide ellagique à moduler l'expression de certains médiateurs de l'immunité innée des muqueuses orales. De plus, l'activité antifongique de la punicalagine, de l'acide ellagique et des flavonols issus du fruit permettent de prévenir et de traiter la candidose orale, chimio et radio-induite ou non, et induite par le port de prothèse. Son efficacité serait comparable à la nystatine et au clotrimazole. L'incorporation d'extrait de grenade dans la résine PMMA des prothèses et dans les adhésifs de surface prothétiques suggère une alternative pour éviter ou contrer la stomatite dentaire. Son application sous forme de gel chez les patients qui présentent une stomatite aphteuse mineure récidivante accélère leur guérison et soulage la douleur. Ce pouvoir cicatrisant est également prometteur au niveau des ulcères traumatiques ainsi que sur les plaies post-extractionnelles, en induisant une hausse des facteurs impliqués dans l'angiogenèse et le processus de cicatrisation. En outre, les composants de la grenade montrent des bienfaits encourageant en cancérologie orale. La stimulation de l'apoptose des cellules épithéliales malignes orales, l'induction de leur dysfonctionnement mitochondrial et l'inhibition de la migration et l'invasion du processus métastatique causés par l'acide ellagique, la punicalagine et la punicaline procure une nouvelle voie d'exploration dans la prévention et le traitement de cancers oraux.

Pour finir, l'effet thérapeutique de la grenade s'étend au domaine de la virologie par son action antivirale contre le virus de l'herpès HSV-1 lorsqu'elle est combinée à des sels de zinc. Son efficacité apparaît semblable à l'aciclovir contre HSV-1, et effective contre HSV résistant à l'aciclovir.

Bien que très peu d'effets secondaires et indésirables ne soient attribués à la grenade, mis à part le risque allergique éventuel, davantage d'études sont à entreprendre afin d'évaluer tout son potentiel thérapeutique et préventif dans le domaine de la santé bucco-dentaire et plus largement dans le domaine médical, ainsi que la sûreté de son utilisation. Les propriétés de la grenade décrites ouvrent de multiples perspectives dans le cadre de la prévention et de traitement pour la santé bucco-dentaire, en envisageant l'emploi d'extrait de grenade sous forme de gel à application gingivale, sous-gingivale ou muqueuse, de solution de bain de bouche, de milieu de stockage, ou incorporée dans un matériau de coiffage pulpaire, dans une solution d'irrigation canalaire ou encore dans les matériaux prothétiques. La tendance actuelle à se tourner vers des médications plus naturelles concède à la grenade un intérêt grandissant en tant qu'alternative ou adjuvant aux médications chimiques.

Bibliographie

1. Abdollahzadeh Sh, Mashouf RY, Mortazavi H, Moghaddam MH, Roozbahani N, Vahedi M. Antibacterial and Antifungal Activities of Punica Granatum Peel Extracts Against Oral Pathogens. *J Dent Tehran Univ Med Sci.* 2011a; 8(1): 1-6.
2. Ahmadi Gavlighi H, Tabarsa M, You S, Surayot U, Ghaderi-Ghahfarokhi M. Extraction, characterization and immunomodulatory property of pectic polysaccharide from pomegranate peels: Enzymatic vs conventional approach. *Int J Biol Macromol.* 2018; 116: 698-706.
3. Ahuja S, Dodwad V, Kukreja B, Mehra P, Kukreja P. A comparative evaluation of efficacy of Punica granatum and chlorhexidine on plaque and gingivitis. *J Int Clin Dent Res Organ.* 2011; 3(1): 29-32.
4. Akbulut MB, Guneser MB, Eldeniz AU. Effects of fruit vinegars on root dentin microhardness and roughness. *J Conserv Dent.* 2019; 22(1): 97-101.
5. Almeida NLM, Saldanha LL, da Silva RA, Pinke KH, da Costa EF, Porto VC, et coll. Antimicrobial activity of denture adhesive associated with Equisetum giganteum- and Punica granatum-enriched fractions against Candida albicans biofilms on acrylic resin surfaces. *Biofouling Chur Switz.* 2018; 34(1): 62-73.
6. Babaji P, Melkundi M, Devanna R, Suresh BS, Chaurasia VR, V GP. In vitro comparative evaluation of different storage media (hank's balanced salt solution, propolis, Aloe vera, and pomegranate juice) for preservation of avulsed tooth. *Eur J Dent.* 2017; 11(1): 71-5.
7. Badria FA. Melatonin, serotonin, and tryptamine in some egyptian food and medicinal plants. *J Med Food.* 2002; 5(3): 153-7.
8. Bassiri-Jahromi S, Pourshafie MR, Mirabzade Ardakani E, Ehsani AH, Doostkam A, Katirae F, et coll. In Vivo Comparative Evaluation of the Pomegranate (Punica granatum) Peel Extract as an Alternative Agent to Nystatin against Oral Candidiasis. *Iran J Med Sci.* 2018; 43(3): 296-304.
9. Batista da Silva PM, Chappuis Chocano AP, Sandrini Venante H, Bringel da Costa RM, da Silva RA, Neppelenbroek KH, et coll. Beneficial effects of three natural products for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial: Efeitos benéficos de três produtos naturais para o tratamento da estomatite protética: um ensaio clínico randomizado. *Arch Dent Sci Arq Em Odontol.* 2021; 57: 141-8.
10. Bhadbhade SJ, Acharya AB, Rodrigues SV, Thakur SL. The antiplaque efficacy of pomegranate mouthrinse. *Quintessence Int Berl Ger 1985.* 2011; 42(1): 29-36.
11. Cutler CW, Stanford TW, Abraham C, Cederberg RA, Boardman TJ, Ross C. Clinical benefits of oral irrigation for periodontitis are related to reduction of

- pro-inflammatory cytokine levels and plaque. *J Clin Periodontol.* 2000; 27(2): 134-43.
12. Derakhshan Z, Ferrante M, Tadi M, Ansari F, Heydari A, Hosseini MS, et coll. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food Chem Toxicol.* 2018; 114: 108-11.
 13. Eghbali S, Askari SF, Avan R, Sahebkar A. Therapeutic Effects of Punica granatum (Pomegranate): An Updated Review of Clinical Trials. *J Nutr Metab.* 2021; 2021: 1-22.
 14. Eltay EG, Gismalla BG, Mukhtar MM, Awadelkarim MOA. Punica granatum peel extract as adjunct irrigation to nonsurgical treatment of chronic gingivitis. *Complement Ther Clin Pract.* 2021; 43: 101383.
 15. Fatope MO, Al Burtomani SKS, Takeda Y. Monoacylglycerol from Punica granatum seed oil. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(2): 357-60.
 16. Gavanji S, Larki B, Bakhtari A. The effect of extract of Punica granatum var. pleniflora for treatment of minor recurrent aphthous stomatitis. *Integr Med Res.* 2014; 3(2): 83-90.
 17. Gulube Z, Patel M. Effect of Punica granatum on the virulence factors of cariogenic bacteria *Streptococcus mutans*. *Microb Pathog.* 2016; 98: 45-9.
 18. Hernawati S. The inhibition of malignant epithelial cells in mucosal injury in the oral cavity of strains by pomegranate fruit extract (*Punica granatum linn*) through Bcl-2 expression. *Dent J.* 2013; 46(1): 35-8.
 19. Hernawati S, Zikra YA, Fatmawati DWA. The effects of topical application of red pomegranate (*Punica granatum Linn*) extract gel on the healing process of traumatic ulcers in Wistar rats. *Dent J.* 2019; 52(2): 90-4.
 20. Houston DMJ, Bugert JJ, Denyer SP, Heard CM. Potentiated virucidal activity of pomegranate rind extract (PRE) and punicalagin against Herpes simplex virus (HSV) when co-administered with zinc (II) ions, and antiviral activity of PRE against HSV and aciclovir-resistant HSV. *PLoS ONE.* 2017; 12(6): e0179291.
 21. Howell AB, D'Souza DH. The pomegranate: effects on bacteria and viruses that influence human health. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2013; 2013: 606212.
 22. Ito H, Li P, Koreishi M, Nagatomo A, Nishida N, Yoshida T. Ellagitannin oligomers and a neolignan from pomegranate arils and their inhibitory effects on the formation of advanced glycation end products. *Food Chem.* 2014; 152: 323-30.
 23. Jacob B, Malli Sureshbabu N, Ranjan M, Ranganath A, Siddique R. The Antimicrobial Effect of Pomegranate Peel Extract versus Chlorhexidine in High Caries Risk Individuals Using Quantitative Real-Time Polymerase Chain

Reaction: A Randomized Triple-Blind Controlled Clinical Trial. *Int J Dent.* 2021; 2021: 1-14.

24. Kadam NS, Kunte SS, Patel AR, Shah PP, Lodaya RR, Lakade LS. Comparative Evaluation of the Effect of Pomegranate Peel Extract and Chlorhexidine 0.2% Mouthwash on Salivary pH in Children between 6 and 8 Years of Age: An In vivo Study. *J Int Oral Health.* 2019; 11(1): 40-4.
25. Kandyliis P, Kokkinomagoulos E. Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives. *Foods.* 2020; 9(2): 122.
26. Ko K, Dadmohammadi Y, Abbaspourrad A. Nutritional and Bioactive Components of Pomegranate Waste Used in Food and Cosmetic Applications: A Review. *Foods.* 2021; 10(3): 657.
27. Kumar KSP, Samlin SS, Siva B, Sudharshan R, Vignesswary A, Divya K. *Punica granatum* as a salutiferous superfruit in the treatment of oral candidiasis: An in-vitro study. *J Oral Maxillofac Pathol JOMFP.* 2020; 24(1): 188-9.
28. Lansky E, Shubert S, Neeman I. Pharmacological and therapeutic properties of pomegranate. *Options Méditerran Sér A Sémin Méditerran.* 2000; (42): 231-5.
29. Lin LT, Chen TY, Lin SC, Chung CY, Lin TC, Wang GH, et coll. Broad-spectrum antiviral activity of chebulagic acid and punicalagin against viruses that use glycosaminoglycans for entry. *BMC Microbiol.* 2013; 13(1): 187.
30. Mallya L, Shenoy R, Mala K, Shenoy S. Evaluation of the antimicrobial efficacy of 20% *Punica granatum*, 0.2% chlorhexidine gluconate, and 2.5% sodium hypochlorite used alone or in combinations against *Enterococcus faecalis*: An in-vitro study. *J Conserv Dent.* 2019; 22(4): 367-70.
31. Melgarejo P, Salazar DM, Artés F. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Eur Food Res Technol.* 2000; 211(3): 185-90.
32. Mo J, Panichayupakaranant P, Kaewnopparat N, Nitiruangjaras A, Reanmongkol W. Topical anti-inflammatory and analgesic activities of standardized pomegranate rind extract in comparison with its marker compound ellagic acid in vivo. *J Ethnopharmacol.* 2013; 148(3): 901-8.
33. Mukka PK, Komineni NK, Pola S, Soujanya E, Karne AR, Nenavath B, et al. An In-vitro Comparative Study of Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel using three Herbal Antioxidants. *J Clin Diagn Res JCDR.* 2016; 10(10): ZC89-92.
34. Nirwana I. Application of pomegranate (*Punica granatum* Linn.) fruit extract for accelerating post-tooth extraction wound healing. *Dent J.* 2018; 51(4): 189-93.
35. Nirwana I, Agustantina TH, Soekartono RH. Nf-Kb Expressions on Rat Dental Pulp Mechanically Exposed after Pomegranate Fruit Extract Administration. *J Int Dent Med Res.* 2017a; 10(1): 123-7.

36. Nirwana I, Rachmadi P, Rianti D. Potential of pomegranate fruit extract (*Punica granatum* Linn.) to increase vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor expressions on the post-tooth extraction wound of *Cavia cobaya*. *Vet World*. 2017b; 10(8): 999-1003.
37. Pande G, Akoh CC. Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia-grown pomegranate cultivars. *J Agric Food Chem*. 2009; 57(20): 9427-36.
38. Peng SY, Hsiao CC, Lan TH, Yen CY, Farooqi AA, Cheng CM, et coll. Pomegranate extract inhibits migration and invasion of oral cancer cells by downregulating matrix metalloproteinase-2/9 and epithelial-mesenchymal transition. *Environ Toxicol*. 2020; 35(6): 673-82.
39. Peng SY, Lin LC, Chen SR, Farooqi AA, Cheng YB, Tang JY, et coll. Pomegranate Extract (POMx) Induces Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis of Oral Cancer Cells. *Antioxid Basel Switz*. 2021; 10(7): 1117.
40. Prakash J, Bhatnagar V, Nath S, Pulikkotil S, Prajapati VK. Effect of *Punica granatum* Extract Gel on Gingival Crevicular Fluid Levels of Interleukin-1 β , Interleukin-8 and CCL28 Levels: Randomised Controlled Clinical Trial. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11(11): ZC12-7.
41. Prasad D, Kunnaiah R. *Punica granatum*: A review on its potential role in treating periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*. 2014; 18(4): 428-32.
42. Promsong A, Chung WO, Satthakarn S, Nittayananta W. Ellagic acid modulates the expression of oral innate immune mediators: potential role in mucosal protection. *J Oral Pathol Med*. 2015; 44(3): 214-21.
43. Rafiq Z, Narasimhan S, Vennila R, Vaidyanathan R. Punigratane, a novel pyrrolidine alkaloid from *Punica granatum* rind with putative efflux inhibition activity. *Nat Prod Res*. 2016; 30(23): 2682-7.
44. Russo M, Fanali C, Tripodo G, Dugo P, Muleo R, Dugo L, et coll. Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties. *Anal Bioanal Chem*. 2018; 410(15): 3507-20.
45. Sahgal A, Chaturvedi SS, Bagde H, Agrawal P, Suruna R, Limaye M. A Randomized Control Trial to Evaluate Efficacy of Anti-bacterial and Anti-inflammatory Effect of Aloe vera, Pomegranate and Chlorhexidine Gel against Periodontopathogens. *J Int Oral Health*. 2015; 7(11): 33-6.
46. Santos MGC dos, Nóbrega DR de M, Arnaud RR, Santos RC dos, Gomes DQ de C, Pereira JV. *Punica granatum* Linn. prevention of oral candidiasis in patients undergoing anticancer treatment. *Rev Odontol UNESP*. 2017; 46(1): 33-8.
47. Sedigh-Rahimabadi M, Fani M, Rostami-Chijan M, Zarshenas MM, Shams M. A Traditional Mouthwash (*Punica granatum* var *pleniflora*) for Controlling

Gingivitis of Diabetic Patients: A Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial. *J Evid-Based Complement Altern Med.* 2017; 22(1): 59-67.

48. Sisodiya M, Ahmed S, Sengupta R, Priyanka, Saha A, Verma G. A comparative assessment of pomegranate extract, sodium hypochlorite, chlorhexidine, Myrrh (*Commiphora molmol*), tulsi extract against *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Staphylococci epidermidis*. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2021; 25(2): 369-369.
49. Somu CA, Ravindra S, Ajith S, Ahamed MG. Efficacy of a herbal extract gel in the treatment of gingivitis: A clinical study. *J Ayurveda Integr Med.* 2012; 3(2): 85-90.
50. Stover E, Mercure EW. The Pomegranate: A New Look at the Fruit of Paradise. *HortScience.* 2007; 42(5): 1088-92.
51. Suratno IR, Dwiandhono I, Purnama RB. Pomegranate (*Punica granatum L.*) gel extract as an antioxidant on the shear bond strength of a resin composite post-bleaching application with 40% hydrogen peroxide. *Dent J Maj Kedokt Gigi.* 2021; 54(2): 87-91.
52. Tavangar A, Aslani A, Nikbakht N. Comparative Study of *Punica granatum* Gel and Triadent Oral Paste Effect on Recurrent Aphthous Stomatitis, a Double Blind Clinical Trial. *J Dent.* 2019; 20(3): 184-9.
53. Tavassoli-Hojjati S, Aliasghar E, Babaki FA, Emadi F, Parsa M, Tavajohi S, et coll. Pomegranate juice (*punica granatum*): a new storage medium for avulsed teeth. *J Dent Tehran Iran.* 2014; 11(2): 225-32.
54. Thotambailu AM, Bhandary BSK, Sharmila KP. Protective Effect of *Punica granatum* Extract in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Radiotherapy. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019; 71(Suppl 1): 318-20.
55. Thring TSA, Hili P, Naughton DP. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complement Altern Med.* 2009; 9: 27.
56. Tyagi P, Dodwad V, Kukreja B, Kukreja P. A comparison of the efficacy of scaling and root planning with application of pomegranate chip, pomegranate gel, and scaling and root planing in sufferers with adult periodontitis: A prospective study. *J Indian Soc Periodontol.* 2021; 25(1): 41-6.
57. Umar D, Dilshad B, Farhan M, Ali A, Baroudi K. The effect of pomegranate mouthrinse on *Streptococcus mutans* count and salivary pH: An in vivo study. *J Adv Pharm Technol Res.* 2016; 7(1): 13-6.
58. Vahid-Dastjerdi E, Monadi E, Khalighi HR, Torshabi M. Down-Regulation of Glycosyl Transferase Genes in *Streptococcus Mutans* by *Punica Granatum L.* Flower and *Rhus Coriaria L.* Fruit Water Extracts. *Iran J Pharm Res IJPR.* 2016; 15(2): 513-9.

59. Veloso DJ, Abrão F, Martins CHG, Bronzato JD, Gomes BPFA, Higino JS, et coll. Potential antibacterial and anti-halitosis activity of medicinal plants against oral bacteria. *Arch Oral Biol.* 2020; 110: 104585.
60. Venante HS, Chappuis-Chocano AP, Marcillo-Toala OO, da Silva RA, da Costa RMB, Pordeus MD, *et al.* Fibrin Biopolymer Incorporated with Antimicrobial Agents: A Proposal for Coating Denture Bases. *Mater Basel Switz.* 2021; 14(7): 1618.
61. Viuda-Martos M, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2010; 9(6): 635-54.
62. Wu S, Tian L. Diverse Phytochemicals and Bioactivities in the Ancient Fruit and Modern Functional Food Pomegranate (*Punica granatum*). *Molecules.* 2017; 22(10): 1606.

Références bibliographiques électroniques

63. El-Sherbini GT. In Vitro Effect of Pomegranate Extract on *Trichomonas Tenax*. *J Bacteriol Amp Parasitol* [Internet]. 2014 [cité 16 mars 2022]; 3(4): 1000143. Disponible sur: https://www.academia.edu/1808233/In_vitro_Effect_of_Pomegranate_Peel_Extract_on_Trichomonas_tenax
64. Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez JM, Sreeharshan S. Pomegranate Fruit as a Rich Source of Biologically Active Compounds. *BioMed Res Int* [Internet]. 2014 [cité 15 juin 2021]; 2014: 686921. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4000966/>

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire.....	
Table des illustrations.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	
1. GRENADE.....	
1.1. Présentation.....	
1.2. Composants issus de la grenade ayant des propriétés thérapeutiques...	
1.2.1. Phytoestrogènes.....	
1.2.2. Minéraux	
1.2.3. Vitamines	
1.2.4. Sucres	
1.2.5. Fibres	
1.2.6. Hormones stéroïdiennes	
1.2.7. Lipides	
1.2.8. Acides organiques	
1.2.9. Alcaloïdes et indolamines	
1.2.10. Polyphénols.....	
2. REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR LES APPLICATIONS OU LES UTILISATIONS DE LA GRENADE EN MÉDECINE BUCCO-DENTAIRE.....	
2.1. Matériel et méthode.....	
2.1.1. Bases de données	
2.1.2. Mots-clefs	
2.1.3. Critères de sélection	

2.1.4. Présentation de la sélection	
2.2. Résultats et discussion selon leurs indications cliniques.....	
2.2.1. Généralités	
2.2.2. Hygiène orale	
2.2.3. Odontologie conservatrice	
2.2.4. Parodontologie	
2.2.5. Dermatologie	
2.3. Synthèse des résultats sous forme de tableaux récapitulatifs.....	
Conclusion.....	
Bibliographie.....	
Table des matières.....	

PICOT-DILLY Mathilde – La grenade en médecine bucco-dentaire

Nancy 2022 : xxpages, 49 figures, 6 tableaux

Th. : Chir.-Dent. : Nancy 2022

Mots-clefs :

- Pomegranate
- *Punica granatum*
- Punicalagin
- Oral health
- Dentistry

Résumé :

La grenade est utilisée depuis l'Antiquité pour ses vertus médicinales et pharmacologiques. En effet, des propriétés antiseptiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, anthelminthiques ou encore anti-prolifératives lui sont conférées et peuvent offrir des indications potentielles dans divers domaines de la médecine bucco-dentaire.

Au cours de ce travail, nous décrirons d'abord les principes actifs du fruit et leurs propriétés médicinales associées après un bref rappel sur le fruit. Nous analyserons ensuite, à travers une revue de littérature, la possibilité de ses applications thérapeutiques. Un récapitulatif des propriétés de la grenade et de ses domaines d'application permettra de conclure sur son utilisation à envisager en odontologie.

Jury :

Président : Pr Catherine STRAZIELLE

Membres : Dr Claire JURAS
Dr Alexandre BAUDET

Directeur de thèse : Dr Kazutoyo YASUKAWA

Adresse de l'auteur :

Mathilde PICOT-DILLY
53, Avenue du Maréchal De Latre De Tassigny
54000 NANCY