

TEZĂ DE DOCTORAT

Mijloace moderne de investigație și tratament ale leziunilor oro-faciale cu potențial de malignizare

Doctorand **Ioana, Radu**

Conducător de doctorat **Grigore, Băciuț**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Leziunile orale cu potențial de malignizare	17
1.1. Leziunile orale cu potențial de malignizare. Terminologie. Nomenclatură	17
1.2. Epidemiologia leziunilor orale cu potențial de malignizare	17
1.3. Clasificarea leziunilor orale cu potențial de malignizare	18
1.4. Leziunile orale cu potențial de malignizare. Forme clinice	19
1.4.1. Eritroplazia	19
1.4.2. Leucoplazia	19
1.4.3. Fibroza submucoasă orală	19
1.4.4. Lichenul plan oral	20
1.4.5. Cheilita actinică	20
2. Etiopatogenia leziunilor orale cu potențial de malignizare	21
2.1. Stresul oxidativ	21
2.1.1. Stresul oxidativ. Definiție	21
2.1.2. Radicalii liberi	21
2.1.2.1. Definiția radicalilor liberi	21
2.1.2.2. Generarea radicalilor liberi	21
2.1.2.3. Surse de radicali liberi	21
2.1.3. Speciile reactive ale oxigenului	22
2.1.3.1. Speciile reactive ale oxigenului. Definiție. Tipuri de specii reactive ale oxigenului	22
2.1.3.2. Efectele speciilor reactive ale oxigenului asupra organismului	22
2.1.4. Sisteme antioxidante	22
2.1.4.1. Antioxidanți endogeni	23
2.1.4.2. Antioxidanți exogeni	23
2.1.5. Metode de explorare a stresului oxidativ	24
2.1.5.1. Metode directe	24
2.1.5.2. Metode indirecte	24
2.2. Factori de risc implicați în etiopatogenia leziunilor orale cu potențial de malignizare	25
2.1.1. Tutunul	25
2.1.2. Alcoolul	25
2.1.3. Radiațiile ultraviolete	26
2.1.4. Virusul papilloma uman	26
2.1.5. Candida	26
2.1.6. Inflamația cronică	26
2.1.7. Virusul hepatitic	27
2.1.8. Imunosupresia	27
2.1.9. Factorul genetic	27
2.1.10. Obiceiurile alimentare și statusul nutrițional	27

3. Evoluția leziunilor orale cu potențial de malignizare. Factori cu valoare prognostică a cancerizării leziunilor orale cu potențial de malignizare	27
3.1. Factorul clinic	28
3.2. Factorul histopatologic	29
3.2.1. Displazia ușoară	28
3.2.2. Displazia moderată	28
3.2.3. Displazia severă	28
3.2.4. Carcinomul <i>in situ</i>	28
3.3. Factorii moleculari	29
3.4. Inteligența artificială	29
4. Tratamentul leziunilor orale cu potențial de malignizare	29
4.1. Monitorizare atentă	29
4.2. Terapii de ablație. Terapii chirurgicale	30
4.3. Chemoprevenția	30
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	33
2. Metodologie generală	35
2.1. Studiu experimental	35
2.1.1. Motivația alegerii modelului experimental	35
2.1.2. Motivația alegerilor antioxidanților	35
2.1.2.1. Extractul de semințe de struguri	35
2.1.2.2. Curcumina	35
2.1.3. Animale utilizate	36
2.1.4. Metode utilizate	37
2.1.4.1. Măsurarea parametrilor stresului oxidativ și apărării antioxidante	37
2.1.4.2. Examenul histopatologic	38
2.1.4.3. Analiza statistică	40
2.2. Studiu clinic	41
2.2.1. Populația țintă	41
2.2.2. Metode utilizate	41
2.2.2.1. Măsurarea parametrilor stresului oxidativ și apărării antioxidante	41
2.2.2.2. Examenul histopatologic	43
2.2.2.3. Analiza statistică	43
3. Studiul 1	
Inducerea leziunilor orale cu potențial de malignizare cu 4-nitroquinoline-1-oxide la șobolani Wistar. Aspecte histopatologice și efecte asupra balanței oxidanți-antioxidanți	45
3.1. Introducere	45
3.2. Ipoteza de lucru	46
3.3. Material și metodă	46
3.4. Rezultate	46
3.4.1. Rezultate histopatologice	46
3.4.2. Rezultate de laborator	48
3.5. Discuții	52
3.6. Concluzii	54
4. Studiul 2	57
Efectul administrării extractului de semințe de struguri (BM) și	

curcuminei în etapa de inițiere și postinițiere a carcinogenezei orale cu 4-nitro-quinoline-1-oxid la șobolanii Wistar. Aspecte histopatologice și efecte asupra balanței oxidanți-antioxidanți	
4.1. Introducere	57
4.2. Ipoteza de lucru	58
4.3. Material și metodă	58
4.4. Rezultate	59
4.4.1. Rezultate histopatologice	59
4.4.2. Rezultate de laborator	64
4.5. Discuții	70
4.6. Concluzii	73
5. Studiul 3	
Implicațiile stresului oxidativ în patogeneza lichenului plan oral	75
5.1. Introducere	75
5.2. Ipoteza de lucru	75
5.3. Material și metodă	75
5.4. Rezultate	76
5.4.1. Caracteristici și corelații generale	76
5.4.2. Rezultate histopatologice	78
5.4.3. Rezultate de laborator	79
5.5. Discuții	83
5.6. Concluzii	86
6. Studiul 4	
Utilizarea logicii fuzzy în evaluarea riscului de cancerizare a leziunilor orale cu potențial de malignizare	87
6.1. Introducere	87
6.2. Material și metodă	87
6.3. Rezultate	91
6.4. Discuții	92
6.5. Concluzii	93
7. Discuții generale	95
7.1. Discuții studiu experimental	95
7.2. Discuții studiu clinic	99
7.3. Discuții modelare sistem expert	100
8. Concluzii generale	103
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	105
REFERINȚE	107

REZUMAT

Cuvinte cheie: leziuni orale cu potențial de malignizare, stres oxidativ

Cancerul oro-facial, obiectul a numeroase studii, rămâne o importantă cauză de mortalitate și morbiditate în întreaga lume. Cea mai mare parte din cancerele orale se dezvoltă din leziuni orale cu potențial de malignizare, diagnosticarea cât mai precoce și screeningul corespunzător al acestora îmbunătățind șansele de vindecare. Deși intens studiată în literatura de specialitate, etiopatogenia leziunilor orale cu potențial de malignizare este neclară, nu există un consens în privința tratamentului, și, până în prezent, nu s-a depistat un biomarker al cancerizării acestor leziuni.

Cel mai important factor molecular în carcinogeneză este alterarea oxidativă a ADN-ului, stresul oxidativ fiind implicat în inițierea, promoția și progresia acestui proces. Importanța stresului oxidativ în carcinogeneză este subliniată și de cercetări care indică participarea lui în mecanismele de acțiune ale factorilor favorizanți ai leziunilor orale cu potențial de malignizare. Stresul oxidativ apare ca urmare a dezechilibrului între formarea radicalilor liberi (RL) în organism și neutralizarea lor de către sistemele antioxidante, și își exercită efectele distructive prin alterarea ADN-ului dar și prin peroxidarea lipidică și alterarea proteinelor.

Cercetarea implicării stresului oxidativ în carcinogeneză, identificarea unor metode de predicție a malignizării leziunilor orale cu potențial de malignizare și a unor modalități de tratament ale acestora reprezintă direcții de cercetare de mare interes la nivel național și internațional.

Având în vedere dificultatea urmăririi la pacienți a alterărilor apărute în timpul unui proces atât de complex cum e carcinogeneza, modelele experimentale au fost utilizate în multe studii deoarece permit surprinderea tuturor stadiilor carcinogenezei. Modelul experimental cel mai folosit este cel în care cancerele orale sunt induse cu ajutorul 4-nitro-quinoline-1-oxidului (4NQO) datorită faptului că în timpul carcinogenezei induse de acesta se dezvoltă leziuni displazice și apar modificări biochimice similare modelului uman. Pornind de la datele deja existente în literatura de specialitate am indus leziuni orale cu potențial de malignizare la șobolani albi, rasa Wistar, utilizând 4NQO. Rezultatele obținute în cadrul acestui prim studiu demonstrează că administrarea 4NQO determină modificări ale balanței oxidanți-antioxidanți la nivel general și local și apariția de leziuni displazice orale. O concluzie importantă a acestui studiu este faptul că localizarea și intensitatea leziunilor displazice depinde de modalitatea de administrare a carcinogenului.

Neutralizarea și protecția împotriva RL se poate realiza de către o serie de compuși prezenți în alimentație. Dintre aceștia, polifenolii sunt considerați antioxidanți puternici, după unii autori chiar mai puternici decât vitamina C, E și carotenoizii. Implicarea polifenolilor în carcinogeneză se face prin mecanisme de modificare a statusului redox și de interferare cu funcțiile celulare ca ciclul celular, apoptoza, inflamația, angiogeneza, progresia și metastazarea.

Ca urmare, în continuare s-a evaluat efectul administrării curcuminei și a extractului de semințe de struguri Burgund Mare (BM) în etapa de inițiere și postinițiere a carcinogenezei orale, asupra indicatorilor stresului oxidativ și a intensității leziunilor displazice orale. S-a efectuat analiza comparativă a efectelor administrării curcuminei în etapa de inițiere a carcinogenezei cu efectele administrării ei în etapa de postinițiere a carcinogenezei asupra parametrilor luați în studiu. Similar s-a procedat și cu BM-ul. S-a comparat eficacitatea administrării curcuminei cu cea a BM-ului la administrarea lor în etapa de inițiere a carcinogenezei, și eficacitatea administrării lor la administrarea lor în etapa de postinițiere a carcinogenezei. În acest studiu, administrarea curcuminei și BM-ului în etapa de inițiere și postinițiere a carcinogenezei a avut un efect antioxidant atât în ser cât și la nivelul mucoasei orale, reducerea leziunilor displazice întâlnită asociindu-se cu un grad mai redus de peroxidare lipidică. Rezultatele indică o eficacitate mai mare asupra reducerii stresului oxidativ și a intensității leziunilor displazice la administrarea curcuminei față de administrarea BM-ului în etapa de inițiere a carcinogenezei, și o eficacitate mai mare la administrarea BM-ului în etapa de postinițiere față de administrarea lui în etapa de inițiere a carcinogenezei.

Există controverse în legătură cu potențialul malign al lichenului plan oral, dar majoritatea autorilor susțin încadrarea lui în grupul leziunilor orale cu potențial de malignizare. Cea mai importantă complicație a lichenului plan oral rămâne carcinomul spinocelular. Se presupune că în etiopatogenie este implicată imunitatea mediată celular, dar studii recente incriminează stresul oxidativ în patogeneza acestei afecțiuni. Studiul clinic urmărit modificarea balanței oxidanți-antioxidanți în ser și țesut recoltat de la nivelul leziunilor de lichen plan oral. Rezultatele pledează pentru implicarea stresului oxidativ în patogeneza acestei afecțiuni indicând o creșterea a nivelului stresului oxidativ și o reducere a capacității antioxidante atât general cât și local.

Identificarea leziunilor orale cu potențial de malignizare care se vor canceriza este imposibilă în prezent. Literatura de specialitate conține studii în care s-a propus utilizarea inteligenței artificiale în medicină în general și în diagnosticul cancerului în special. În ultimul studiu am propus

utilizarea logicii Fuzzy în screeningul leziunilor orale cu potențial de malignizare. S-au folosit două mărimi de intrare în sistemul decizional multicriterial (un indicator al stresului oxidativ și unul al apărării antioxidante, determinate în ser) și o mărime de ieșire (riscul de îmbolnăvire). După stabilirea regulilor de inferență care realizează corespondențele între intrări și ieșire, introducerea oricăror valori a mărimilor de intrare generează un răspuns - mărimea de ieșire, căruia îi este atribuit un termen lingvistic fiind astfel mai ușor de procesat de către utilizator. Integrarea acestui sistem expert într-un sistem informatic interfață-utilizator, mai complex, ar putea fi util clinicianului în screeningul leziunilor orale cu potențial de malignizare și atitudinea terapeutică ulterioară.

În cercetarea de față s-a reușit realizarea unui model experimental de inducere a leziunilor orale cu potențial de malignizare la animale de experiență. Cele mai severe leziuni au fost localizate la nivel gingival, rezultat ce completează puținele studii din literatura de specialitate în care s-au indus leziuni displazice la nivelul gingiei.

Creșterea stresului oxidativ și diminuarea capacității antioxidante în ser și țesut la aceste animale pledează pentru implicarea stresului oxidativ în patogeneza leziunilor orale cu potențial de malignizare.

Administrarea curcuminei și BM-ului în timpul inițierii și postinițierii carcinogenezei a determinat reducerea stresului oxidativ și intensității leziunilor displazice, efectul curcuminei fiind mai puternic decât al BM-ului în etapa de inițiere a carcinogenezei, însă în etapa de postinițiere a carcinogenezei efectele celor doi antioxidanți sunt comparabile. BM-ul a fost mai eficace administrat în etapa de postinițiere față de etapa de inițiere a carcinogenezei. Cercetarea efectului antioxidant și chemopreventiv al BM-ului, și compararea lui cu cel al curcuminei s-a realizat din cunoștințele noastre pentru prima dată în studiul de față.

Implicarea stresului oxidativ în patogeneza leziunilor orale cu potențial de malignizare este susținută și de studiul clinic în care s-a înregistrat modificarea balanței oxidanți-antioxidanți general și local la pacienții diagnosticați cu lichen plan oral. Determinarea parametrilor de stres oxidativ și apărare antioxidantă la nivelul leziunilor de lichen plan oral, din cunoștințele noastre, s-a realizat pentru prima dată în cadrul cercetării de față.

Sistemul expert de estimarea a riscului de cancerizare propus de noi, primul de acest tip din cunoștințele noastre, poate fi integrat într-un sistem informatic interfață-utilizator mai complex care să fie util clinicianului în screeningul leziunilor orale cu potențial de malignizare.

PhD THESIS

MODERN INVESTIGATION AND THERAPEUTIC METHODS OF ORO-FACIAL POTENTIALLY MALIGNANT DISORDERS

PhD student **Ioana, Radu**

Coordinator **Grigore, Băciuț**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENTS

INTRODUCTION	13
BACKGROUND	
1. Oral potentially malignant disorders	17
1.1. Oral potentially malignant disorders. Terminology. Nomenclature	17
1.2. Epidemiology of oral potentially malignant disorders	17
1.3. Classification of oral potentially malignant disorders	18
1.4. Oral potentially malignant disorders. Clinical forms	19
1.4.1. Eritroplakia	19
1.4.2. Leucoplakia	19
1.4.3. Oral submucous fibrosis	19
1.4.4. Oral lichen planus	20
1.4.5. Actinic cheilitis	20
2. Etiopathogenesis of oral potentially malignant disorders	21
2.1. Oxidative stress	21
2.1.1. Oxidative stress. Definition	21
2.1.2. Free radicals	21
2.1.2.1. Definition of free radicals	21
2.1.2.2. Generation of free radicals	21
2.1.2.3. Sources of free radicals	21
2.1.3. Reactive oxygen species	22
2.1.3.1. Reactive oxygen species. Definition. Types of reactive oxygen species	22
2.1.3.2. Effects of reactive oxygen species on the organism	22
2.1.4. Antioxidant systems	22
2.1.4.1. Endogenous antioxidants	23
2.1.4.2. Exogenous antioxidants	23
2.1.5. Exploring methods of oxidative stress	24
2.1.5.1. Direct methods	24
2.1.5.2. Indirect methods	24
2.2. Risk factors implicated in the etiopathogenesis of oral potentially malignant disorders	25
2.2.1. Tobacco	25
2.2.2. Alcohol	25
2.2.3. Ultraviolet radiations	26
2.2.4. Human papilloma virus	26
2.2.5. Candidosis	26
2.2.6. Chronic inflammation	26
2.2.7. Hepatitis virus	27
2.2.8. Immunosuppression	27
2.2.9. Genetic factor	27
2.2.10. Alimentation habits and nutritional status	27

3. Evolution of oral potentially malignant disorders. Prognostic factors in cancerisation of oral potentially malignant disorders	27
3.1. Clinical factor	28
3.2. Histopathological factor	29
3.2.1. Mild dysplasia	28
3.2.2. Moderate dysplasia	28
3.2.3. Severe dysplasia	28
3.2.4. Carcinoma <i>in situ</i>	28
3.3. Molecular factors	29
3.4. Artificial intelligence	29
4. Treatment of oral potentially malignant disorders.	29
4.1. Close observation	29
4.2. Ablation therapies. Surgical therapies	30
4.3. Chemoprevention	30
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Hypothesis/objectives	33
2. General methodology	35
2.1. Experimental study	35
2.1.1. Motivation of choosing the animal model	35
2.1.2. Motivation of choosing the antioxidants	35
2.1.2.1. The grape seeds extract	35
2.1.2.2. Curcumin	35
2.1.3. Animals	36
2.1.4. Methods	37
2.1.4.1. Measurement of oxidative stress and antioxidant capacity parameters	37
2.1.4.2. Histopathological exam	38
2.1.4.3. Statistical analysis	40
2.2. Clinical study	41
2.2.1. Target population	41
2.2.2. Methods	41
2.2.2.1. Measurement of oxidative stress and antioxidant capacity parameters	41
2.2.2.2. Histopathological exam	43
2.2.2.3. Statistical analysis	43
3. Study 1	
Induction of oral potentially malignant disorders in Wistar rats using 4-nitro-quinoline-1-oxide. Histopathological aspects and effects on oxidants-antioxidants balance	45
3.1. Introduction	45
3.2. Hypothesis	46
3.3. Material and methods	46
3.4. Results	46
3.4.1. Histopathological results	46
3.4.2. Laboratory results	48
3.5. Discussions	52
3.6. Conclusions	54
4. Study 2	
Effect of the grape seeds extract (BM) and curcumin on the initiation and postinitiation of oral carcinogenesis in Wistar	57

rates using cu 4-nitro-quinoline-1-oxide. Histopathological aspects and effects on oxidants-antioxidants balance	
4.1. Introduction	57
4.2. Hypothesis	58
4.3. Material and methods	58
4.4. Results	59
4.4.1. Histopathological results	59
4.4.2. Laboratory results	64
4.5. Discussions	70
4.6. Conclusions	73
5. Study 3	
Implication of oxidative stress in the pathogenesis of oral lichen planus	75
5.1. Introduction	75
5.2. Hypothesis	75
5.3. Material and methods	75
5.4. Results	76
5.4.1. General characteristics and correlations	76
5.4.2. Histopathological results	78
5.4.3. Laboratory results	79
5.5. Discussions	83
5.6. Conclusions	86
6. Study 4	
Application of fuzzy logic in cancer risk assessment of oral potentially malignant disorders	87
6.1. Introduction	87
6.2. Material and methods	87
6.3. Results	91
6.4. Discussions	92
6.5. Conclusions	93
7. General discussions	95
7.1. Discussions over the experimental study	95
7.2. Discussions over the clinical study	99
7.3. Discussions over the expert system modelation	100
8. General conclusions	103
9. Originality and novelty elements	105
REFERENCES	107

SUMMARY

Key words: oral potentially malignant disorders, oxidative stress

The object of numerous studies, oro-facial cancer still remains an important cause of mortality and morbidity all over the world. Giving the fact that most of oral cancers are developed from oral potentially malignant disorders, an early diagnosis and a proper screening of these disorders would improve the chances of recovery. Although intensely studied in the literature, the etiopathogenesis of oral potentially malignant disorders is still not clear, it does not exist a consensus regarding the treatment and, till now, no single biomarker to indicate the cancerisation of these disorders was discovered.

The most important molecular event in carcinogenesis is DNA oxidative alteration, oxidative stress being implicated in the initiation, promotion and progression of this process. Research indicating the participation of oxidative stress in the pathogenesis of oral potentially malignant disorders point out the importance of oxidative stress in carcinogenesis. Oxidative stress is the result of the disequilibrium between free radicals (FR) and antioxidant protection. Oxidative stress was found to be responsible for DNA alteration, lipids peroxidation and protein alterations.

The implication of oxidative stress in carcinogenesis, the identification of new therapeutic methods and new methods to predict the cancerisation of oral potentially malignant disorders represent important research directions at national and international level.

Considering the difficulty of monitoring the alterations during such a complex process like carcinogenesis in patients, experimental models were used in numerous studies for they allow the interception of all stages of carcinogenesis. The experimental oral carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) is one of the most used because during this process the dysplastic lesions and the biochemical changes developed are very similar to humans. Based on already existing data we induced oral potentially malignant disorders in Wistar, white, male rats using 4NQO. The results obtained in this first study showed that 4NQO alters oxidants-antioxidants balance locally and generally and induces oral dysplasia. An important conclusion of this study is that the localization and intensity of these lesions depend on the mode of carcinogen administration.

A series of components present in food are able to neutralize and protect against FR. Among them polyphenols are considered powerful

antioxidants, by some authors even more powerful than vitamin C, D and carotenoids. The implication of polyphenols in carcinogenesis is realized by modification of redox status, interferes with cell functions as cell cycle, apoptosis, inflammation, angiogenesis, progression and metastasis.

Starting from these data in the next step we evaluated the effect of administering curcumin and Burgund Mare grape seeds extract (BM) during the initiation and postinitiation of oral carcinogenesis on oxidative stress parameters and intensity of the dysplastic lesions. The comparative analysis of the effects of curcumin given in the initiation versus postinitiation of carcinogenesis was made. The effects of BM were estimated similarly. A comparison between the effects of the two antioxidants during the initiation and postinitiation of oral carcinogenesis was carried out. In this study administration of curcumin and BM had an antioxidant effect in serum and oral mucosa, the intensity of oral dysplasia being associated with the lipid peroxidation level. The results indicate a greater efficacy of curcumin versus BM on the oxidative stress and intensity of dysplasia in the initiation of carcinogenesis. BM was more effective given during postinitiation than given during initiation of carcinogenesis.

There are controversies regarding the malignant potential of oral lichen planus but most of the authors include it in oral potentially malignant disorders group. The most important complication of oral lichen planus remains oral squamous cell carcinoma. Cell mediated immunity was implicated in the etiopathogenesis of oral lichen planus. Recent studies incriminate oxidative stress in the pathogenesis of this disorder. The clinical study evaluated the alteration of oxidants-antioxidants balance in serum and tissue. The results plead for the implication of oxidative stress in the pathogenesis of this disorder for they indicate a local and general increase of oxidative stress and decrease of antioxidant capacity.

The identification of oral potentially malignant disorders that will evolve in cancer is impossible in the present. The literature contains studies in which artificial intelligence was proposed to be used in medicine in general and in the diagnosis of cancer in particular. In our last study we proposed the application of fuzzy logic in cancer risk assessment of oral potentially malignant disorders. Two inputs were used in the multicriterial decisional system (an indicator of oxidative stress and one of the antioxidant capacity) and an output (the risk of illness). After the establishment of the inference rules that realize the correspondence between the inputs and the output, any values introduced as inputs will generate a response, the output to which was attributed a linguistic term, easier to processed by the user. This multi-criteria decision support system

can be integrated in a more complex user-friendly (interface-user) integrated computer system that can be an important aid for clinicians in screening these disorders and establishing future medical decision.

In this research we succeeded in inducing oral potentially malignant disorders in experimental animals. The most severe lesions were localized on the gingival mucosa, results that complete the few studies in the literature in which gingival dysplasias were induced.

Serum and tissue increased oxidative stress and decreased antioxidant capacity in these animals plead for the implication of oxidative stress in the pathogenesis of oral potentially malignant disorders.

The administration of curcumin and BM during the initiation and postinitiation of carcinogenesis resulted in the reduction of oxidative stress and intensity of the dysplastic lesions, curcumin being more effective than BM during the initiation of carcinogenesis. In the postinitiation phase the effects of the two antioxidants were comparable. BM was more effective when administered in the postinitiation than in the initiation phase of carcinogenesis. The study of the antioxidant and chemopreventive potential of BM and the comparison with that of curcumin was realized, to our knowledge, for the first time in this research.

The implication of oxidative stress in the pathogenesis of oral potentially malignant disorders is also sustained by the results of the clinical study in which it was observed an alteration of oxidants-antioxidants balance both locally and generally in patients diagnosed with oral lichen planus. The assay of oxidative stress and antioxidant capacity biomarkers in the lesions of oral lichen planus was realized, to our knowledge, for the first time in this research.

The risk of cancerisation assessment expert system proposed by us, first of this kind to our knowledge, can be integrated in a more complex interface-user computer system as an aid to clinicians in screening of oral potentially malignant disorders.