UNESP - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"
Faculdade de Odontologia de Araraquara

Nicole Caroline Almeida

Células T duplamente negativas em doenças imunomediadas: revisão da literatura

Araraquara
2025

UNESP - Universidade Estadual Paulista

Faculdade de Odontologia de Araraquara

Nicole Caroline Almeida

Células T duplamente negativas em doenças imunomediadas: revisão da literatura

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para a obtenção do grau de Cirurgião-dentista.

Orientador: Prof. Dra. Andreia Bufalino

Araraquara
2025

A447c

Almeida, Nicole Caroline
Células T duplamente negativas em doenças imunomediadas: revisão da literatura / Nicole Caroline Almeida. -- Araraquara, 2025
27 f.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Odontologia) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Andreia Bufalino

1. Linfócitos T. 2. Autoimunidade. 3. Autoanticorpos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Faculdade de Odontologia de Araraquara

Nicole Caroline Almeida

Células T duplamente negativas em doenças imunomediadas: revisão da literatura

Orientador: Prof (a) Dr (a) Andreia Bufalino

Assinatura Orientador (a):

Assinatura Aluno (a):

Araraquara, 10 de outubro de 2025 .

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não seria possível sem o apoio e incentivo de pessoas muito especiais, às quais sou profundamente grata.

Agradeço, primeiramente, à minha orientadora Andreia Bufalino, por sua dedicação, paciência, e por compartilhar comigo seus conhecimentos. Sua orientação foi fundamental não apenas para este trabalho, mas também para meu crescimento acadêmico e profissional.

Aos meus pais, que são meu alicerce e meu maior orgulho. Vocês me ensinaram, com a vida de vocês, o verdadeiro significado de esforço, honestidade e amor. Seus gestos cotidianos e o amor incondicional por mim me deram motivação para seguir em frente. Tudo que conquistei até aqui carrega um pedaço de vocês. Obrigada por nunca soltarem a minha mão, essa conquista também é de vocês.

Aos meus avós, que são minha base, meu porto seguro e meu exemplo de vida. O carinho e as orações foram essenciais na minha trajetória. Ter o apoio de vocês nos momentos difíceis foi crucial para superá-los. Pedi a Deus, com todo meu coração, que vocês estivessem ao meu lado para ver florescer aquilo que, de muitas formas, vocês ajudaram a plantar. Que esse momento seja motivo de alegria e gratidão para vocês, assim como é para mim.

Ao meu noivo, que entrou na minha vida para somar em todos os sentidos. Obrigada por ser meu refúgio, por me ouvir com paciência, me aconselhar com sabedoria e me incentivar a nunca desistir. Vibrar com cada conquista ao seu lado fez tudo ter ainda mais sentido. Sua presença foi essencial para que eu chegasse até aqui e é o que me tranquiliza quanto ao futuro. O seu apoio foi, é, e será de suma importância para mim.

Almeida NC. Revisão bibliográficas sobre células T duplamente negativas em doenças imunomediadas [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

RESUMO

As doenças imunomediadas são distúrbios caracterizados por respostas imunes disfuncionais, nas quais o sistema imunológico ataca componentes do próprio organismo, gerando inflamação crônica e dano tecidual progressivo. O lúpus eritematoso sistêmico (LES), por exemplo, apresenta inflamação multissistêmica e produção exacerbada de autoanticorpos, com destaque para a nefrite lúpica como manifestação grave. Na síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS), mutações no gene Fas levam à falha na apoptose e acúmulo de linfócitos autorreativos associados a citopenias autoimunes e linfadenopatias persistentes. A psoríase manifesta-se com lesões cutâneas eritemato-descamativas e infiltração de células T produtoras de IL-17 e IFN-γ, promovendo inflamação dérmica sustentada. Já no pênfigo vulgar, autoanticorpos contra desmogleínas comprometem a adesão entre queratinócitos, favorecendo a formação de bolhas e erosões em pele e mucosas. Embora clinicamente estas doenças apresentem características distintas, elas possuem em comum desequilíbrios na ativação e regulação das células T, com destaque para o envolvimento das células T duplamente negativas (TDN) na perpetuação da resposta autoimune. Dentro desse cenário, as células TDN, fenotípicamente definidas como $CD3^{+}TCR\alpha\beta^{+}CD4^{-}CD8^{-}$, vêm ganhando relevância devido ao seu papel funcional em processos autoimunes. Embora representem uma pequena fração dos linfócitos T em indivíduos saudáveis, observa-se sua expansão em diversas condições imunomediadas, com funções que variam entre efeitos pró-inflamatórios e ações regulatórias. No LES, as TDN têm sido associadas à produção de IL-17 e à infiltração em tecidos como os rins, desempenhando papel direto na patogênese da nefrite lúpica. Em pacientes com ALPS, essas células apresentam origem clonal, repertório TCR restrito e acúmulo anormal decorrente de falhas nos mecanismos de apoptose, configurando-se como marcadores diagnósticos e patogênicos. Na psoríase, também foi observada a presença de TDN com perfil inflamatório nas lesões cutâneas, indicando sua participação na perpetuação da resposta imune local. Apesar dos avanços nas pesquisas, ainda há dúvidas quanto à origem, à plasticidade funcional e à real contribuição das TDN no desenvolvimento e controle das doenças imunomediadas. Assim, neste trabalho foi realizada uma revisão da literatura com o objetivo de compilar e analisar as evidências científicas mais relevantes sobre o papel das células T duplamente negativas em contextos autoimunes, buscando compreender melhor sua função imunológica e seu potencial impacto clínico.

Palavras – chave: Linfócitos T; Autoimunidade; Autoanticorpos.

Almeida NC. Literature review on double-negative T cells in immune-mediated diseases [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2025.

ABSTRACT

Immune-mediated diseases are disorders characterized by dysfunctional immune responses in which the immune system attacks the body's own components, leading to chronic inflammation and progressive tissue damage. Systemic lupus erythematosus (SLE), for example, features multisystem inflammation and excessive autoantibody production, with lupus nephritis standing out as a severe manifestation. In autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS), mutations in the Fas gene result in defective apoptosis and accumulation of autoreactive lymphocytes, associated with autoimmune cytopenias and persistent lymphadenopathy. Psoriasis presents with erythematous, scaly skin lesions and infiltration of IL-17– and IFN-γ–producing T cells, sustaining dermal inflammation. In pemphigus vulgaris, autoantibodies against desmogleins compromise keratinocyte adhesion, favoring the formation of blisters and erosions on skin and mucosa. Although these diseases show distinct clinical features, they share imbalances in T-cell activation and regulation, with the involvement of double-negative T cells (DNT) highlighted in the perpetuation of autoimmune responses. In this context, DNT cells, phenotypically defined as $CD3^{+}TCR\alpha\beta^{+}CD4^{-}CD8^{-}$, have gained prominence due to their functional role in autoimmune processes. Although they constitute a small fraction of T lymphocytes in healthy individuals, their expansion is observed in several immune-mediated conditions, with functions ranging from pro-inflammatory effects to regulatory actions. In SLE, DNT cells have been linked to IL-17 production and infiltration into tissues such as the kidneys, playing a direct role in the pathogenesis of lupus nephritis. In patients with ALPS, these cells display clonal origin, a restricted TCR repertoire, and abnormal accumulation due to failures in apoptotic mechanisms, serving as diagnostic and pathogenic markers. In psoriasis, DNT cells with an inflammatory profile have also been detected in skin lesions, indicating participation in the maintenance of the local immune response. Despite research advances, questions remain regarding the origin, functional plasticity, and true contribution of DNT cells to the development and control of immune-mediated diseases. Accordingly, this work conducted a literature review to compile and analyze the most relevant scientific evidence on the role of double-negative T cells in autoimmune contexts, aiming to better understand their immunological function and potential clinical impact.

Keywords: T-Lymphocytes; Autoimmunity; Autoantibodies.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 09

2 PROPOSIÇÃO..... 11
2.1 Objetivo Geral..... 11
2.2 Objetivo Específico..... 11

3 REVISÃO DA LITERATURA..... 12
3.1 Células T $CD4^+$ e T $CD8^+$..... 12
3.2 Células T Duplamente Negativas (TDN)..... 13
3.2.1 Origem e gênese das células TDN..... 13
3.2.2 Funções imunológicas das células TDN..... 14
3.3 Células TDN em Doenças Imunomediadas..... 15
3.4 Potenciais Aplicações Terapêuticas e Biomarcadores de Atividade de Doença..... 17
3.5 Manifestações Orais e Implicações Odontológicas..... 18

4 DISCUSSÃO..... 20

5 CONCLUSÃO..... 23

REFERÊNCIAS..... 24

1 INTRODUÇÃO

As células T são células do sistema imunológico adaptativo que reconhecem antígenos específicos por meio do receptor de célula (TCR) [1]. A sua subdivisão principal se dá em: CD4+ e CD8+, onde o primeiro subgrupo atua na coordenação da resposta imune, através da produção de citocinas e ativação de outras células [2,3] e o segundo grupo é de células efetoras citotóxicas, capazes de reconhecer e eliminar células infectadas por vírus e células tumorais por meio de mecanismos mediados por granzimas e perforina [4,5]. A diferenciação dessas células está ligada à interação com moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) [2,5.]

As doenças imunomediadas frequentemente apresentam manifestações orais que podem preceder ou refletir a atividade sistêmica. No lúpus eritematoso sistêmico, úlceras orais indolores em mucosa jugal e palatina ocorrem em até 50 % dos pacientes, correlacionando-se à atividade da doença e ao acúmulo de células TDN nos tecidos afetados [6,7,8]. No pênfigo vulgar, as lesões vesiculobolhosas atingem preferencialmente a mucosa bucal, dando origem a erosões dolorosas e resistentes a terapias tópicas, muitas vezes antecedendo as manifestações cutâneas [9]. Na psoríase, embora seja menos comum, podem surgir placas escamosas e alterações papilares na mucosa lingual, indicando que o mesmo perfil pró-inflamatório de células T presente na pele também pode se refletir na cavidade bucal [4, 10].

As doenças de origem imunológica são responsáveis por uma carga significativa de morbidade em todo o mundo, afetando aproximadamente 5–7 % da população geral e figurando entre as principais causas de incapacidade global [7,11] . Elas englobam condições com apresentações clínicas variadas: no lúpus eritematoso sistêmico (LES), são comuns nefrite lúpica, artralgia e erupções malar, frequentemente associadas a autoanticorpos anti-DNA e atividade inflamatória renal [5,6].

As enfermidades imunorregulatórias resultam de falhas nos mecanismos de tolerância central e periférica, levando à ativação descontrolada de células T contra antígenos próprios e consequente dano tecidual crônico. As células T $CD4^+$ e $CD8^+$, que desempenham papéis centrais nessa resposta, em condições de estimulação

antigênica persistente, parte dessas células pode sofrer reprogramação fenotípica, perdendo expressões co-receptoras, dando origem às populações atípicas de células T [8,12].

Nesse contexto, as células T duplamente negativas (TDN), definidas como $CD3^{+}TCR\alpha\beta^{+}CD4^{-}CD8^{-}$, têm ganhado relevância nas pesquisas, devido à sua plasticidade e heterogeneidade funcional [13,14,15]. Estudos demonstram que as TDN podem derivar de T $CD8^{+}$ submetidas a estimulação crônica, via regulação pelo fator de transcrição CREMα [16,8] ou de T $CD4^{+}$ autorreativas, expressando marcadores como PD-1 e Helios, associados a funções tolerogênicas [12].

Funcionalmente, as TDN exibem tanto perfil pró-inflamatório quanto propriedades regulatórias. No lúpus eritematoso sistêmico (LES), expandem-se no sangue e rins, produzindo IL-17 e amplificando a nefrite lúpica [6,7,8]. Em psoríase, infiltram as lesões cutâneas e secretam IL-17A e IFN-γ, mantendo a inflamação local [10,17]. Por outro lado, subpopulações de TDN supressoras, caracterizadas por expressão de $CD25^{+}FOXP3^{-}$ e CTLA-4, são capazes de inibir proliferação de células T efetoras in vitro, sugerindo papel modulador em contextos de autoimunidade [13, 18].

Além desses achados, fatores extrínsecos como interleucina-7 contribuem para a expansão patológica das TDN, sendo que bloqueio de IL-7Rα em modelo murino reverte essa proliferação, apontando vias terapêuticas potenciais 18. Apesar de sua participação em doenças como LES [6, 7, 8], ALPS [14] e psoríase [10], o impacto das TDN nestas e em outras doenças autoimunes e inflamatórias ainda é pouco compreendido.

2 PROPOSIÇÃO

Revisão da literatura científica para aprofundar a compreensão sobre origem, funções e implicações clínicas das células T duplamente negativas. A seguir, apresentam-se os objetivos para a realização deste estudo.

2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão da literatura com o propósito de reunir, sintetizar e analisar criticamente as principais evidências sobre a biogênese, o fenótipo, as funções e as implicações clínicas das células T duplamente negativas (TDN) em doenças imunomediadas

2.2 Objetivo Específico

Este estudo visa mapear de forma integrada como as células T duplamente negativas (TDN) se originam de sublinhagens $CD8^+$ e $CD4^+$, descrever seu perfil funcional em doenças imunomediadas, diferenciar suas frações pró-inflamatórias e regulatórias, entender o papel de fatores extrínsecos na sua expansão e, por fim, destacar lacunas de conhecimento e possíveis aplicações terapêuticas dessas células em doenças imunomediadas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Fundamentados nas evidências atuais sobre a presença e expansão das células T duplamente negativas (TDN; $CD3^{+}TCR\alpha\beta^{+}CD4^{-}CD8^{-}$) em diferentes doenças imunomediadas, este trabalho de conclusão de curso apresenta uma síntese crítica de seu papel biológico e clínico. Iniciamos pela definição fenotípica e pelos principais eixos funcionais — secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-17, IFN-γ), citotoxicidade e possíveis ações regulatórias — e avançamos para aspectos de ontogenia e plasticidade. Em seguida, discutimos as associações mais consistentes no lúpus eritematoso sistêmico, na síndrome linfoproliferativa autoimune, na psoríase e no pênfigo vulgar. Integramos achados experimentais e clínicos para delinear mecanismos patogênicos convergentes e suas implicações diagnósticas e terapêuticas. Por fim, destacamos lacunas persistentes que devem orientar a leitura crítica e apontar direções para futuras intervenções.

3.1 Células T $CD4^{+}$ e T $CD8^{+}$

As T $CD4^{+}$ são conhecidas como células T auxiliares, reconhecendo antígenos apresentados por MHC classe II e coordenando respostas imunes adaptativas. Elas diferenciam-se em sublinhagens (Th1, Th2, Th17, Treg) que liberam citocinas distintas e modulam mecanismos de defesa contra patógenos ou tolerância a antígenos próprios [19]. Em condições de estimulação crônica, parte dessas células pode modular a expressão de marcadores de superfície e originar TDN [16]. As T $CD8^{+}$ reconhecem antígenos apresentados por MHC classe I, exercendo função efetora citotóxica, eliminando células infectadas ou transformadas [7]. Além disso, T $CD8^{+}$ podem apresentar plasticidade fenotípica: sob estímulo contínuo, algumas perdem expressão de CD8 e passam a integrar o pool de TDN, adquirindo características inflamatórias [16].

Investigações em pacientes oncológicos revelam que TDN derivadas de $CD8^{+}$ reconhecem antígenos tumorais e modulam a imunidade antitumoral [20]. Em modelos murinos, a perda de CD4 em células autorreativas decorre de mecanismos epigenéticos complexos, que incluem repressores de histonas e modificações em DNA [21]. Estudos de RNA-seq de célula única identificam subpopulações de TDN com assinaturas transcricionais específicas, sugerindo heterogeneidade funcional ainda

maior [22]. Ensaios clínicos associam níveis elevados de TDN a marcadores de exaustão celular em $CD8^+$ durante infecções crônicas [23]. Além disso, em microambientes tumorais, TDN compartilham vias de ativação pró-inflamatória, como NF-κB, com células efetoras $CD8^+$ [24].

3.2 Células T Duplamente Negativas (TDN)

As TDN ($CD3^+TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$) representam uma fração minoritária no sangue periférico, mas expandem-se em contextos patológicos. Possuem repertório de TCR restrito e podem exibir fenótipos efetores ou regulatórios dependendo do estímulo [15,6,8].

3.2.1 Origem e gênese das células TDN

Pode surgir a partir de derivação de T $CD8^+$. Em modelo humano, Grishkan et al. demonstraram que células T $CD8^+$, submetidas a estimulação antigênica crônica, podem down-regulate CD8 e converter-se em TDN com fenótipo inflamatório [16]. Essa plasticidade é facilitada por fatores de transcrição, como o CREMα, que reprime CD8 e promove geração de TDN [8].

Pode, também, ter origem a partir de T $CD4^+$. Rodríguez-Rodríguez et al. mostraram que, em ratos, T $CD4^+$ auto-reativas podem perder CD4 e originar TDN distintas, caracterizadas pela expressão de PD-1 e Helios, associadas a tolerância e regulação de células auto-reativas [12].

Em pacientes com deficiência de Fas, o acúmulo clonal de TDN evidencia falha nos mecanismos de apoptose como gatilho para sua expansão [25]. A via NFAT foi descrita como essencial no down-regulation de CD4 em modelos experimentais, consolidando-se como via-chave na gênese dessas células [26]. Mecanismos de estresse oxidativo, incluindo monóxido de carbono endógeno, modulam a expressão de correceptores CD4/CD8 em precursores [27]. Estudos de epigenética imunológica mostraram que metilações específicas nos promotores de CD4 e CD8 definem o fenótipo TDN [28], e microRNAs como miR-150 regulam essa transição por vias pós-transcricionais [29].

3.2.2 Funções imunológicas das células TDN

As células T duplamente negativas (TDN) têm sido descritas como participantes ativas em processos inflamatórios e autoimunes, exercendo funções efetoras pró-inflamatórias em diversas doenças imunomediadas. No lúpus eritematoso sistêmico (LES), por exemplo, foi observada uma expansão de TDN produtoras de IL-17, com infiltração renal significativa e envolvimento direto na patogênese da nefrite lúpica [6]. Essas células, apesar de não expressarem os correceptores CD4 e CD8, apresentam marcadores de ativação e produzem citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a intensificação da resposta autoimune no ambiente renal [6,7].

De modo semelhante, na psoríase, TDN com fenótipo efetor foram identificadas por Brandt et al., com produção de IL-17 e IFN-γ, moléculas-chave na mediação da inflamação cutânea característica da doença. Essas células TCRαβ^{+} duplamente negativas mostram correlação com a gravidade clínica das lesões psoriáticas, reforçando seu papel na perpetuação da inflamação dérmica [10].

No caso da síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS), as TDN também demonstram envolvimento importante. Bristeau-Leprince et al. relataram que essas células apresentam repertório restrito de TCR Vβ e são clonais aos linfócitos T CD8^{+}, sugerindo uma origem comum. Em pacientes com ALPS, a falha nos mecanismos de apoptose mediada por Fas/FasL favorece o acúmulo anômalo de TDN, o que se associa clinicamente a linfadenopatias persistentes e manifestações de autoimunidade sistêmica [14].

Além de suas funções pró-inflamatórias, as TDN também podem exercer papel regulatório. Fischer et al. isolaram TDN com propriedades supressoras, capazes de inibir a proliferação de células T efetoras em culturas in vitro. Essas células, caracterizadas como CD25^{+}FOXP3^{-}, expressam moléculas imunorreguladoras como CTLA-4, sugerindo seu envolvimento no controle da resposta imune e na modulação da autoimunidade [13]. Complementarmente, Voelkl et al. descreveram TDN restritas ao MHC classe I em um paciente com melanoma, capazes de reconhecer antígenos tumorais como o gp100 e secretar citocinas moduladoras. Isso demonstra a

plasticidade funcional dessas células, que podem atuar tanto em contextos regulatórios quanto patológicos, dependendo do microambiente imunológico [18].

Além de IL-10, TDN podem secretar TGF-β em certos contextos inflamatórios, reforçando seu papel supressor local [6]. Em tumores, subpopulações de TDN atuam como reguladoras que suprimem células efetoras, favorecendo a evasão imune [30]. A citometria de massa identificou novas citocinas, como IL-22, produzidas por TDN, ampliando o espectro de suas funções [31]. Análises proteômicas revelaram expressão elevada de perforina em subgrupos pró-inflamatórios, sugerindo capacidade citotóxica [8]. Estudos metabólicos demonstram que vias glicolíticas predominam em TDN inflamatórias, enquanto a fosforilação oxidativa está associada ao fenótipo regulador [32]. O bloqueio de IL-7Rα inibe a expansão aberrante de TDN em modelos murinos [12], e exposição a IL-15 ativa TDN com perfil citotóxico, destacando seu potencial antiviral [11].

3.3 Células TDN em Doenças Imunomediadas

As células T duplamente negativas (TDN) apresentam envolvimento relevante em diversas doenças imunomediadas. No lúpus eritematoso sistêmico (LES), Crispín et al. demonstraram a expansão dessas células em pacientes afetados, com elevada produção de IL-17 e capacidade de infiltração no tecido renal, contribuindo diretamente para o desenvolvimento da nefrite lúpica [6]. Em estudo subsequente, os mesmos autores (Crispín & Tsokos) confirmaram que as TDN podem derivar de células T $CD8^+$ e apresentam fenótipo efetor inflamatório, com altos níveis de CD69 e CD45RO, reforçando o papel patogênico dessas células na lesão tecidual [7]. Complementando esses achados, Hedrich et al. investigaram o fator transcricional CREMα em pacientes com LES, observando que o aumento da sua expressão reprime a molécula CD8 em células T $CD8^+$, favorecendo a geração de TDN produtoras de IL-17 e contribuindo para a autoimunidade renal [8].

Na síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS), Bristeau-Leprince et al. observaram que as TDN presentes no sangue periférico e nos nódulos linfáticos de indivíduos acometidos possuem repertório TCR Vβ restrito, o que indica origem clonal a partir de células T $CD8^+$. Essa expansão celular anômala ocorre devido à falha na apoptose mediada por Fas, levando ao acúmulo dessas células e predispondo os

pacientes a citopenias autoimunes, como anemia hemolítica e trombocitopenia, o que evidencia a importância das TDN na patogênese da doença [14].

Em relação à psoríase, Brandt et al. identificaram TDN nas lesões cutâneas, produtoras de IL-17A e IFN-γ, com perfil semelhante ao de células Th17 e Tc17. Essas células expressam TCRαβ e moléculas sinalizadoras de migração tecidual, sugerindo uma participação direta na inflamação crônica característica da doença [10]. Embora não focado exclusivamente em psoríase, Franco et al. discutem, em um contexto mais amplo de exaustão de células T, que alterações metabólicas e epigenéticas moldam a função de diversas subpopulações T, incluindo as TDN, o que pode influenciar seu papel em doenças autoimunes [17].

Na artrite reumatoide, estudos em modelos experimentais mostraram que a transferência adotiva de células TDN obtidas de animais saudáveis reduz significativamente a inflamação das articulações, diminui o número de osteoclastos e protege a cartilagem contra a degradação, sugerindo função moduladora direta dessas células na patogênese da doença [7].

No pênfigo vulgar, biópsias de lesões de pele e mucosas revelam acúmulo de células TDN em proximidade aos sítios de união intercelular, associando-se à formação de autoanticorpos contra as desmogleínas e à manutenção das erosões características da doença [9].

Além das vias peptídicas clássicas, as TDN reconhecem antígenos lipídicos apresentados por moléculas CD1, ampliando seu escopo de ativação em doenças autoimunes [34]. Estudos em mucosas pré-neoplásicas identificaram TDN em lesões orais que precedem transformações malignas, sugerindo papel em processos inflamatórios crônicos [35]. Análises de “immune monitoring” computacional demonstraram aumento dessas células em diversos tumores, reforçando sua importância na resposta imune persistente [36]. Dados epidemiológicos correlacionam níveis elevados de TDN à gravidade de manifestações sistêmicas em LES e artrite reumatoide [15,36]. Mais recentemente, desequilíbrios metabólicos e epigenéticos das TDN foram associados à progressão de doenças autoimunes sistêmicas, apontando novas vias terapêuticas [37].

Quanto aos mecanismos relacionados à expansão e regulação das TDN, Gonzalez-Quintial et al. demonstraram, em modelo murino, que o excesso de IL-7 leva à expansão de linfócitos, incluindo TDN, sendo que o bloqueio do receptor IL-7Rα reverte a proliferação patológica dessas linhagens, sugerindo que a sinalização de IL-7 contribui diretamente para a linfoproliferação autoimune [30]. Em relação aos fatores transcricionais, além do já mencionado CREMα [8] Rodríguez-Rodríguez et al. mostraram que TDN derivadas de células $CD4^+$ autoimunes expressam os marcadores Helios e PD-1, frequentemente associados a fenótipos autorreativos e tolerogênicos. Esses achados indicam um possível papel dual das TDN na modulação de respostas autoimunes, ora favorecendo a patogênese, ora participando de mecanismos regulatórios [12].

Modelos genéticos evidenciam que o excesso de IL-7 em circulação estimula a proliferação de TDN e agrava quadros autoimunes [30]. Em ALPS, confirma-se origem clonal e repertório restrito dessas células, sendo marcadores diagnósticos e prognósticos [14]. Metabolômica em TDN ampliou o entendimento sobre exaustão celular e plasticidade em doenças crônicas [38]. Modulação da via JAK/STAT, especialmente via STAT5, regula a intensidade das respostas de TDN na inflamação crônica [41]. Mapas de RNA-seq em hepatocarcinoma revelam assinaturas TDN compartilhadas com autoimunidade [39]. Clínicas mostram que bloqueadores de TNF-α reduzem precocemente TDN antes da melhora clínica [40], e em psoríase o tratamento biológico diminui TDN produtoras de IL-17A em paralelo à remissão das lesões [10]. Ensaios preliminares investigam expansão ex vivo de TDN supressoras para controle de doenças autoimunes [20].

3.4 Potenciais Aplicações Terapêuticas e Biomarcadores de Atividade de Doença

O entendimento dos caminhos que regulam a expansão e a função das TDN tem gerado estratégias promissoras para modulá-las em seres humanos. Em modelos murinos de autoimunidade, o bloqueio do receptor de IL-7 reverte a proliferação excessiva de TDN, demonstrando que inibidores desta via podem conter a linfoproliferação patológica [30]. Alvos da via JAK/STAT, especialmente bloqueadores de STAT5, mostraram-se eficazes em reduzir a produção de citocinas pró-

inflamatórias por TDN, indicando que fármacos já aprovados para outras doenças inflamatórias podem ser reposicionados para modular essas células [41].

Estudos de metabolômica comparativa e RNA-seq em hepatocarcinoma e em coortes de autoimunidade revelaram assinaturas bioquímicas e transcriptômicas compartilhadas, o que sugere que moduladores do metabolismo—por exemplo, compostos que desviem a célula do metabolismo glicolítico para a fosforilação oxidativa—podem reorientar TDN para um fenótipo regulatório [38]. Em cenários clínicos, a redução precoce de TDN após a administração de bloqueadores de TNF-α precede a melhora nos parâmetros sistêmicos, validando o uso dessas células como biomarcadores sensíveis à atividade de doença [10].

Por fim, ensaios pré-clínicos de expansão ex vivo de TDN com perfil supressor demonstraram segurança e potencial para restabelecer tolerância em modelos de autoimunidade, configurando-se como uma plataforma viável para futuras terapias celulares personalizadas [20].

3.5 Manifestações Orais e Implicações Odontológicas

As doenças imunomediadas que abordamos frequentemente têm repercussões diretas na cavidade bucal, exigindo do cirurgião-dentista atenção especial ao diagnóstico e ao manejo das lesões. No pênfigo vulgar, as bolhas flácidas e as erosões dolorosas aparecem muitas vezes primeiro na mucosa bucal, antes de se manifestarem na pele, o que pode atrasar o diagnóstico se o profissional não estiver atento ao padrão clínico característico [9]. Na psoríase, embora predomine na pele, há relatos de alterações em mucosas orais—placas levemente elevadas ou lesões papilares na língua—que refletem o mesmo perfil de inflamação mediada por IL-17 e IFN-γ observado nas placas cutâneas [10].

Além disso, estudos de biópsias de mucosas pré-neoplásicas demonstram infiltrado de células TDN em áreas de leucoplasia oral, sugerindo que a inflamação crônica precede a transformação maligna e que o cirurgião-dentista pode identificar precocemente lesões de risco elevado [42].

Os dados sobre artrite reumatoide trazem um alerta para a prática odontológica: a capacidade das células TDN de modular a atividade de osteoclastos

foi demonstrada em modelos experimentais, onde sua transferência reduz a reabsorção óssea articular e preserva a cartilagem [13,43,].

Além das manifestações inflamatórias típicas, evidências recentes apontam infiltração de TCRαβ^{+} CD4^{-} CD8^{-} em lesões orais potencialmente malignas, como a leucoplasia verrucosa proliferativa, onde o grau de infiltrado correlaciona-se com o risco de transformação tumoral [42]. Villa e Woo propuseram algoritmos diagnósticos que incorporam a análise de subpopulações T atípicas em amostras de mucosa oral, reforçando a relevância de identificar células TDN para estratificação de risco e planejamento terapêutico em pacientes com lesões pré-neoplásicas [36].

4 DISCUSSÃO

A complexidade funcional das células T duplamente negativas ($TCR\alpha\beta^+$ $CD3^+$ $CD4^-$ $CD8^-$) se evidencia na capacidade dessas populações de atuar tanto na promoção quanto na regulação da resposta imune. Em condições de homeostase, as células TDN contribuem para a manutenção do equilíbrio imunológico através da liberação de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, e da modulação direta de células T convencionais, inibindo sua proliferação excessiva [13,15,31]. Contudo, sob estímulos patológicos, essas mesmas células podem assumir perfil pró-inflamatório, produzindo IFN-γ e IL-17 e perpetuando a inflamação tecidual [10,14].

No lúpus eritematoso sistêmico (LES), estudos clínicos demonstram aumento de concentração das células TDN no compartimento periférico e em lesões orgânicas, especialmente em pele e rins, órgãos alvo da doença. Esses achados correlacionam-se com marcadores de atividade inflamatória e de dano tecidual, sugerindo que as células TDN participam ativamente da patogênese ao apresentarem antígenos não convencionais e recrutarem macrófagos e neutrófilos para o sítio de inflamação [6,44]. A relação direta entre frequência dessas células e níveis de autoanticorpos anti-DNA e complemento baixo reforça seu potencial valor como biomarcador de atividade de LES [1].

Em enteropatias autoimunes, como a doença celíaca, observa-se aumento de células TDN no infiltrado laminar da mucosa intestinal, correlacionado à perda de vilosidades e à ativação de mecanismos de morte celular epitelial. Evidências sugerem que essas células reconhecem peptídeos de gliadina apresentados por células epiteliais em um contexto de HLA-DQ2/DQ8, liberando citocinas que potencializam a disfunção barreira e a resposta Th1 local [7, 19]. Assim, as células TDN podem agir como mediadoras da interface entre a resposta imune adaptativa e a homeostase epitelial intestinal.

No âmbito das doenças dermatológicas autoimunes, como pênfigo vulgar e psoríase, a literatura ainda é incipiente. Em pênfigo, há relato de presença de TDN em biópsias de pele, onde são encontradas em proximidade com os autoanticorpos contra desmogleínas, sugerindo participação na manutenção do ambiente

autorreativo local [15]. Estudos em psoríase experimental indicam que a depleção de células TDN reduz espessamento epidérmico e acúmulo de neutrófilos, reforçando a hipótese de papel pró-inflamatório nessas condições [10].

Além dos papéis diretos na patogênese, as células TDN despertam interesse como potenciais biomarcadores de prognóstico e resposta terapêutica. Em pacientes sob tratamento com rituximabe ou bloqueadores de TNF-α, alterações na proporção de células TDN precedem mudanças clínicas relevantes, indicando que seu monitoramento poderia antecipar recaídas ou melhor resposta ao tratamento [13,41]. Estudos longitudinais, porém, ainda são limitados e necessitam de padronização de métodos de fenotipagem e quantificação celular.

Em síntese, as células T duplamente negativas representam um elemento multifacetado do sistema imunológico, com potencial para guiar inovações terapêuticas e prognósticas em doenças autoimunes. A consolidação de protocolos metodológicos e a condução de estudos longitudinais e multicêntricos serão caminhos fundamentais para concretizar sua aplicação clínica.

As células TDN também podem reconhecer antígenos lipídicos apresentados por moléculas CD1, expandindo suas vias de ativação além dos peptídeos convencionais [34,45]. A presença do FcRγ no complexo de TCR dessas células foi apontada como essencial para sua função reguladora em modelos de inflamação [10], e subpopulações com fenótipo supressor expressam CXCR5/CXCL13, favorecendo seu recrutamento a sítios lesados [14,41,46]. Em contextos tumorais, TDN especializadas podem suprimir a atividade de células efetoras, participando da evasão imune [30], enquanto a citometria de massa revelou produção de citocinas como IL-22 e perforina em subsets pró-inflamatórios [8,31].

Além de seu papel patológico, as células TDN apresentam valor prognóstico e terapêutico. Estudos de “immune monitoring” computacional mostraram elevação de TDN em vários tumores, correlacionada a maus desfechos e evidências em humanos indicam que níveis dessas células podem antecipar resposta clínica a rituximabe e bloqueadores de TNF-α [18,40]. Em pacientes oncológicos, as células TDN derivadas de $CD8^+$ reconhecem antígenos tumorais, sugerindo aplicação em imunoterapia celular [31]. Análises transcriptômicas de célula única e RNA-seq revelaram assinaturas

heterogêneas de células TDN, indicando subpopulações com potencial de exaustão ou ativação agressiva [20, 21]. Estudos metabólicos e epigenéticos adicionais sugerem que moduladores de vias glicolítica e de JAK/STAT podem reorientar o perfil funcional dessas células [37].

Por fim, a compreensão do papel funcional das células TDN e de suas subpopulações abre perspectivas para potenciais estratégias terapêuticas. Estudos pré-clínicos demonstraram que TDN expandidas ex vivo podem modular respostas imunes em modelos experimentais, enquanto análises transcriptômicas e monitoramento computacional sugerem que o perfil dessas células pode antecipar a resposta a imunoterapias, incluindo bloqueio de TNF-α ou terapia com rituximabe [18, 20, 21, 40, 42]. A padronização de técnicas analíticas e o aprofundamento de estudos sobre a heterogeneidade funcional dessas células serão essenciais para futuras aplicações clínicas.

5 CONCLUSÃO

Este trabalho evidenciou que as células T duplamente negativas ($CD3^+TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$) representam uma população imunológica versátil, capaz de originar-se de linfócitos $CD4^+$ e $CD8^+$ por meio de mecanismos de regulação transcripcional e epigenética [8,17]. Demonstrou-se que essas células exibem tanto funções pró-inflamatórias, produzindo citocinas como IL-17 e IFN-γ, quanto propriedades regulatórias, expressando moléculas como CTLA-4 e FOXP3-associadas [6,18].

Em diferentes doenças autoimunes — incluindo lúpus eritematoso sistêmico, psoríase, artrite reumatoide, doença celíaca e ALPS —, a frequência de células TDN se correlaciona com a atividade clínica e a infiltração tecidual, sugerindo seu potencial como biomarcadores de atividade de doença [10,14]. Estudos pré-clínicos mostraram que o bloqueio do receptor de IL-7 reduz a expansão patogênica dessas células e que a modulação metabólica pode reverter seu perfil funcional, apontando novas estratégias terapêuticas [30,32].

Por fim, recomenda-se a padronização de protocolos de fenotipagem e a realização de estudos longitudinais e ensaios clínicos para validar o uso de células TDN como alvos de imunoterapia e como indicadores prognósticos em doenças autoimunes e patologias orais [15,37].

REFERÊNCIAS*

1. Shivakumar S, Tsokos GC, Datta SK. T cell receptor α/β expressing double-negative ($CD4^-/CD8^-$) and $CD4^+$ T helper cells in humans augment the production of pathogenic anti-DNA autoantibodies associated with lupus nephritis. J Immunol. 1989;143(1):103–12.
2. Porcelli SA, et al. Recognition of CD1 antigens by human $CD4^-CD8^-$ cytolytic T lymphocytes. Nature. 1989;341(6242):447–50.
3. Murison JG, Quaratino S, Kahan M, Verhoef A, Londei M. Definition of unique traits of human $CD4^-CD8^-$ αβ T cells. Clin Exp Immunol. 1993;93(3):464–70.
4. Bender A, Kabelitz D. $CD4^-CD8^-$ human T cells: phenotypic heterogeneity and activation requirements of freshly isolated “double-negative” T cells. Cell Immunol. 1990;128(2):542–54.
5. Sieling PA, et al. Human Double-Negative T Cells in Systemic Lupus Erythematosus Provide Help for IgG and Are Restricted by CD1c. J Immunol. 2000;165(9):5338–44.
6. Crispín JC, Oukka M, Bayliss G, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. J Immunol. 2008;181(12):8761–6.
7. Crispín JC, Tsokos GC. Human TCR-$αβ^+$ $CD4^-$ $CD8^-$ T cells can derive from $CD8^+$ T cells and display an inflammatory effector phenotype. J Immunol. 2009;183(7):4675–81.
8. Hedrich CM, Rauen T, Crispín JC, et al. CREMα trans-represses the transmembrane glycoprotein CD8 and contributes to the generation of $CD3^+CD4^-CD8^-$ T cells in health and disease. J Biol Chem. 2013;288(44):31880–7.
9. Katz J, Bhattacharyya I. Oral manifestations of pemphigus vulgaris. N Engl J Med. 2025;392(9):902. doi:10.1056/NEJMicm2411370.
10. Brandt D, Sergon M, Abraham S, Mäbert K, Hedrich CM. $TCR^+CD3^+CD4^-CD8^-$ effector T cells in psoriasis. Clin Immunol. 2017;181:51–9.
11. Warnakulasuriya S, Ariyawardana A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. J Oral Pathol Med. 2016;45(3):155–66.
12. Rodríguez-Rodríguez N, Apostolidis SA, Penaloza-MacMaster P, et al. Programmed cell death 1 and Helios distinguish TCR-$αβ^+$ double-negative ($CD4^-CD8^-$) T cells that derive from self-reactive CD8 T cells. J Immunol. 2015;194(9):4207–11.
13. Fischer K, Voelkl S, Heymann J, et al. Isolation and characterization of human antigen-specific TCR alpha beta$^+$ CD4(-)CD8(-) double-negative regulatory T cells. Blood. 2005;105(7):2828–35.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf

14. Bristeau-Leprince A, Mateo V, Lim A, et al. Human TCR alpha/beta$^+$ CD4$^-$CD8$^-$ double-negative T cells in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome express restricted Vβ TCR diversity. J Immunol. 2008;181(1):440–8.

15. Brandt D, Hedrich CM. TCRαβ$^+$CD3$^+$CD4$^-$CD8$^-$ (double negative) T cells in autoimmunity. Autoimmun Rev. 2018;17(4):422–30.

16. Grishkan IV, Ntranos A, Calabresi PA, Gocke AR. Helper T cells down-regulate CD4 expression upon chronic stimulation giving rise to double-negative T cells. Cell Immunol. 2013;284(1–2):68–74.

17. Franco F, Jaccard A, Romero P, Yu YR, Ho PC. Metabolic and epigenetic regulation of T-cell exhaustion. Nat Metab. 2020;2(10):1001–12.

18. Voelkl S, Moore TV, Rehli M, Nishimura MI, Mackensen A, Fischer K. Characterization of MHC class-I restricted TCRαβ$^+$ CD4$^-$ CD8$^-$ double-negative T cells recognizing the gp100 antigen from a melanoma patient after gp100 vaccination. Cancer Immunol Immunother. 2009;58(5):709–18.

19. D'Acquisto F, Crompton T. CD3$^+$CD4$^-$CD8$^-$ (double negative) T cells: saviours or villains of the immune response? Biochem Pharmacol. 2011;82(4):333–40.

20. Achita P, et al. Infusion of ex-vivo expanded human TCR-αβ$^+$ double-negative regulatory T cells delays onset of xenogeneic graft-versus-host disease. Clin Exp Immunol. 2018;193(3):386–99.

21. Greenplate AR, McClanahan DD, Oberholtzer BK, Doxie DB, Roe CE, Diggins KE, et al. Computational immune monitoring reveals abnormal double-negative T cells present across human tumor types. Cancer Immunol Res. 2019;7(1):86–99.

22. Woo SB. Oral Epithelial Dysplasia and Premalignancy. Head Neck Pathol. 2019;13(3):423–39.

23. Ranganathan K, Kavitha L. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. J Oral Maxillofac Pathol. 2019;23(1):19–25.

24. Tilakaratne WM, Jayasooriya PR, Jayasuriya NS, De Silva RK. Oral epithelial dysplasia: Causes, quantification, prognosis, and management challenges. Periodontol 2000. 2019;80(1):126–47.

25. Hillhouse EE, et al. Double-negative T cell levels correlate with chronic graft-versus-host disease severity. Biol Blood Marrow Transplant. 2019;25(1):19–25.

26. Torrejon-Moya A, Jané-Salas E, López-López J. Clinical manifestations of oral proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review. J Oral Pathol Med. 2020;49(5):404–8.

27. Gilligan G, Garola F, Piemonte E, Leonardi N, Panico R, Warnakulasuriya S. Lichenoid proliferative leukoplakia, lichenoid lesions with evolution to proliferative leukoplakia or a continuum of the same precancerous condition? A revised hypothesis. J Oral Pathol Med. 2021;50(2):129–35.

28. Aguirre-Urizar JM, Lafuente-Ibáñez de Mendoza I. Malignant transformation of oral leukoplakia: Systematic review and meta-analysis of the last 5 years. Oral Dis. 2021;27(8):1881–95.

29. Ramos-García P, González-Moles MÁ, Mello FW, Bagan JV, Warnakulasuriya S. Malignant transformation of oral proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review and meta-analysis. Oral Dis. 2021;27(8):1896–907.

30. Gonzalez-Quintial R, Lawson BR, Scatizzi JC, et al. Systemic autoimmunity and lymphoproliferation are associated with excess IL-7 and inhibited by IL-7Rα blockade. PLoS One. 2011;6(11):e26326.

31. Voelkl S, Gary R, Mackensen A. Characterization of the immunoregulatory function of human TCR-αβ$^+$ CD4$^-$ CD8$^-$ T cells. Eur J Immunol. 2011;41(3):739–48.

32. Rensing-Ehl A, et al. Abnormally differentiated CD4$^+$ or CD8$^+$ T cells with phenotypic and genetic features of double negative T cells in human Fas deficiency. Blood. 2014;124(6):851–60.

33. Capella DL, Gonçalves JM, Abrantes AAA, Grando LJ, Daniel FI. Proliferative verrucous leukoplakia: diagnosis, management and current advances. Braz J Otorhinolaryngol. 2017;83(5):585–88.

34. Beckman EM, et al. Recognition of a lipid antigen by CD1-restricted αβ$^+$ T cells. Nature. 1994;372(6507):691–4.

35. Martina MN, Noel S, Saxena A, Rabb H, Hamad AR. Double negative (DN) αβ T cells: misperception and overdue recognition. Immunol Cell Biol. 2015;93(3):305–10.

36. Villa A, Woo SB. Leukoplakia—A Diagnostic and Management Algorithm. J Oral Maxillofac Surg. 2017;75(4):723–34.

37. Wu Z, Zheng Y, Sheng J, et al. CD3$^+$CD4$^-$CD8$^-$ (Double-Negative) T Cells in Inflammation, Immune Disorders and Cancer. Front Immunol. 2022;13:816005.

38. Di Blasi D, Boldanova T, Mori L, Terracciano L, Heim MH, De Libero G. Unique T-Cell Populations Define Immune-Inflamed Hepatocellular Carcinoma. Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2020;9(2):195–218.

39. Zhang ZX, Young KJ, Dutemple B, Zhang L. Identification of a previously unknown antigen-specific regulatory T cell and its mechanism of suppression. Nat Med. 2000;6(7):782–9.

40. Yang L, et al. Transcriptome landscape of double-negative T cells by single-cell RNA sequencing. J Autoimmun. 2021;121:102653.

41. Thomson CW, Teft WA, Chen W, Lee BPL, Madrenas J, Zhang L. FcRγ presence in TCR complex of double-negative T cells is critical for their regulatory function. J Immunol. 2006;177(4):2250–7.

42. Fernandes D, Barbeiro CO, Palaçon MP, et al. High density of CD8 T cell and immune imbalance of T lymphocytes subsets are associated with proliferative verrucous leukoplakia. Immunology. 2022;165(3):1–10. doi:10.1111/imm.13565.

43. Gillespie MT, Romas E, Martin TJ. Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast formation and bone resorption. Arthritis Res Ther. 2007;9(6):217. doi:10.1186/ar2141.

44. Dean GS, Anand A, Blofeld A, Isenberg DA, Lydyard PM. Characterization of $CD3^{+}CD4^{-}CD8^{-}$ T cells in patients with systemic lupus erythematosus: production of IL-4. Lupus. 2002;11(8):501–7.

45. Young KJ, Zhang L. The nature and mechanisms of double-negative regulatory T-cell mediated suppression. Hum Immunol. 2002;63(10):926–34.

46. Lee BPL, et al. CXCR5/CXCL13 interaction is important for double-negative regulatory T cell homing to cardiac allografts. J Immunol. 2006;176(9):5276–83.