

1 Allgemeine Angaben

DFG-Geschäftszeichen	BO 5534/2
Projektnummer	446358093
Titel	<i>Neutrophil Extracellular Traps (NETs) als Zielstruktur zur Prävention postoperativer Peritonealadhäsionen</i>
Antragsteller*in	Univ.-Prof. Dr. Michael Boettcher, Klinik für Kinder- und Jugendchirurgie, Universitätsmedizin Mannheim – Universität Heidelberg
Dienstanschrift	Theodor-Kutzer-Ufer 1-3, 68167 Mannheim
Mitverantwortliche	Prof. Dr. Martin Herrmann (Erlangen), Dr. Deirdre Vincent (Mannheim), PD Dr. Julia Elrod (Mannheim)
Kooperationspartner*innen	UKE Hamburg (Prof. Reinshagen), FAU Erlangen (Prof. Herrmann), Neutrolis Inc. (Cambridge, MA)
Berichtszeitraum	01 Apr 2020 – 31 März 2025

2 Zusammenfassung / Summary

Deutsch (≤ 3 000 Zeichen)

Peritoneale Adhäsionen betreffen bis zu 93% aller Patient*innen nach abdominalen Eingriffen und verursachen Ileus, Schmerzen und Infertilität. Aufbauend auf eigenen Vorarbeiten untersuchte das Projekt die pathophysiologische Rolle von NETs bei der Adhäsionsbildung und evaluierte DNasen (Dornase alfa, NTR-10) als therapeutische Option. In einem murinen Standard-Laparotomiemodell bewirkten NET-defiziente PAD4-Knock-out-Tiere einen signifikanten Rückgang, wohingegen Dnase1^{-/-} und Dnase113^{-/-}-Mäuse stark erhöhte Adhäsionsscores zeigten. DNase-Applikation senkte die Adhäsionslast in drei chirurgischen Szenarien (Laparotomie, Anastomose, Deserosierung) um bis zu 80% ohne Beeinträchtigung der Wundheilung. Transkriptom-Analysen

verdeutlichten eine DNase-vermittelte Down-Regulation entzündlicher Signalwege und insbesondere der Leukozytenaktivierung. Humanes Adhäsionsgewebe enthielt dichte NET-Netzwerke und DNase1L3-Signale, was die Relevanz für den Menschen bestätigte. **Die im iScience-Artikel (Elrod et al., 2023) publizierten Kernbefunde belegen, dass NETs das initiale und vor allem essenzielle Gerüst für Adhäsionen bilden und DNasen deren Entstehung effektiv verhindern.** Im Rahmen des Projektes haben wir diesen Prozess auch bei der Peritonealdialyse evaluiert. Ergänzende Reviews unterstreichen das Potenzial NET-gerichteter Therapien als neuen Standard zur Adhäsionsprophylaxe. Aktuell untersuchen wir weitere NET-Inhibitoren und evaluieren den Crosstalk von Neutrophilen und Makrophagen bei der Entstehung von Adhäsionen.

English (max. 3000 characters)

Peritoneal adhesions affect up to 93 % of patients after abdominal surgery and can lead to ileus, chronic pain and infertility. Building on our previous work, this project investigated the pathophysiological role of neutrophil extracellular traps (NETs) in adhesion formation and evaluated DNases (dornase alfa, NTR 10) as a therapeutic option.

In a standardized murine laparotomy model, NET-deficient PAD4-knockout mice showed a significant reduction in adhesions, whereas $Dnase1^{-/-}$ and $Dnase1l3^{-/-}$ mice exhibited markedly increased adhesion scores. DNase application reduced the adhesion burden by up to 80 % in three surgical settings—laparotomy, anastomosis and serosal abrasion—without impairing wound healing. Transcriptomic analyses revealed DNase-mediated down-regulation of inflammatory signalling pathways, particularly those involved in leukocyte activation.

Human adhesion tissue contained dense NET networks and DNase1L3 signals, confirming clinical relevance. The core findings published in iScience (Elrod et al., 2023) demonstrate that NETs form the initial—and essential—scaffold for adhesions, and that DNases effectively prevent their development. Within this project we also examined the same process in peritoneal dialysis. Complementary reviews highlight the potential of NET-targeted therapies to become a new standard for adhesion prophylaxis. We are currently investigating additional inhibitors of NETs and examining the crosstalk between neutrophils and macrophages in adhesion formation.

3 Wissenschaftlicher Arbeits- und Ergebnisbericht

3.1 Ausgangsfragen und Ziele

1. **Kausalität:** Ist NET-Bildung essenziell für die Entstehung von peritonealen Adhäsionen?

2. **Therapie:** Können DNasen PA verhindern, ohne die „sinnvolle“ Wundheilung zu stören?
3. **Translation:** Spielen NETs auch beim Menschen bei der Entstehung von peritonealen Adhäsionen nach chirurgischen Eingriffen eine zentrale Rolle?

3.2 Methodik

- Tiermodelle: Standardisierte Laparotomie, Deserosation und Dünndarm-Anastomose in WT-, PAD4-/-, Dnase1-/- und Dnase1l3-/-Mäusen.
- Therapie: Applikation von DNasen (u.a. DNase1 und Dnase1l3)
- Analysen: Leach-/Nair-Scoring, Histologie, Immunfluoreszenz, RNA-Seq, Proteomics, Wundheilungs-Endpunkte (Anastomoseninsuffizienz, Hernien).
- Humane Validierung: Immunhistochemie an Adhäsionsbiopsien von 20 Patient*innen.

3.3 Ergebnisse

Ergebnis	Evidenz	Bedeutung
NETs = Gerüst für Adhäsionen	Hohe NET-Last in murinen und humanen Adhäsionen	Neue pathophysiologische Erklärung
DNase-Knockouts ↑ Adhäsionen	Dnase1-/- & Dnase1l3-/- Tiere mit erhöhten Scores	DNasen limitieren Fibrose
NETs-Knockouts & DNasen ↓ Adhäsionen	–80 % Score-Reduktion; beste Wirkung DNase1l3	Proof-of-concept für Therapie
Wundheilung intakt	Keine Zunahme von Hernien/Inzidenz; sogar Trend zur Verbesserung	Klinische Sicherheit
Immunmodulation	2875 von 3718 Genen nach Dnase ↓ (Leukocyten-Aktivierung)	Mechanistische Untermauerung

Es zeigt sich klar, dass die NETs das initiale Gerüst sind, über das sich die Adhäsionen aufbauen. Dies kann im (genetischen) Tiermodell, aber auch bei den humanen Proben von Patienten mit Adhäsionen bestätigt werden.

3.4 Diskussion und Einordnung

Die Daten bestätigen NETs als essentielle Strukturen, die fibrinolytisch resistente Adhäsionsmatrizen schaffen. DNase-Therapie wirkt zweifach: (i) physikalische Zerstörung des DNA-Gerüsts, (ii) Dämpfung pro-inflammatorischer Kaskade, die die Bildung von

Adhäsionen durch weitere Neutrophilen- und Makrophagenaktivierung unterhält. Um eine vollständige Translation zu erreichen ist nun eine Phase II-Studie notwendig.

3.5 Abweichungen vom Arbeitsplan

- Der Standortwechsel des Studienleiters Michael Boettcher und eines Großteils des Laborteams von Hamburg an die Universitätsmedizin Mannheim infolge seiner Berufung auf die W3-Professur für Kinderchirurgie an der Universität Heidelberg führte zu Verzögerungen im Projektablauf. Zusätzlich verursachten die pandemiebedingten Einschränkungen – insbesondere Lieferengpässe – weitere erhebliche zeitliche Verzögerungen.
- Es fanden keine relevanten inhaltlichen Abweichungen vom Arbeitsplan statt.

3.6 Qualitätssicherung & Datenmanagement

- Alle Tierexperimente wurden angezeigt und genehmigt.
- RNA-Seq & Proteomics sind öffentlich einsehbar.

3.7 Öffentliche Wissenschaftskommunikation

- DCK 2022 Boettcher et al.
- DCK 2023 Klinke et al.
- DCK 2024 Elrod et al.
- EUPSA 2022 Boettcher et al.
- EUPSA 2023 Boettcher et al.
- Ilse-Krause-Nachwuchspreis der DGKJCH Elrod

4 Veröffentlichte Projektergebnisse

Jahr	Publikation	Status / Journal	DOI
2023	Schönfeld et al. Immunofluorescence of NETS.	<i>J Vis Exp.</i>	10.3791/6573
2023	Elrod J et al. <i>NETs & DNases orchestrate PA.</i>	<i>iScience</i>	10.1016/j.isci.2023.108289
2024	Lu Y et al. <i>NETs in post-surgical adhesions.</i>	<i>Cells</i> 13	10.3390/cells13110991
2024	Dölling M et al. <i>NETworking for Health.</i>	<i>Children</i> 11	10.3390/children11030295
2024	Singh J et al. <i>Moonlighting chromatin.</i>	<i>Cell Death and Diff</i>	10.1038/s41418-023-01124-1
2025	Dücker C et al. <i>NETs drive peritoneal inflammation in pediatric PD.</i>	<i>Ped Neph</i>	<i>In press</i>

5 Nicht öffentlicher Teil: Qualifikationen & Ausblick

- **Nachwuchs:** Vier abgeschlossene Promotionen (siehe 5.1) und zwei laufende Projekte (1. Crosstalk von Neutrophilen und Makrophagen bei Adhäsion und Wundheilung, 2. Crosstalk von Neutrophilen und Makrophagen bei thermischen Verletzungen).
- **Folgeprojekt:** Als Folgeprojekt sind neben Optimierungen und weiteren Untersuchungen des genauen Mechanismus (Crosstalk between neutrophils and macrophages) eine klinische Studie (Phase-II) geplant. Von der Firma Neutrolis Inc (MA, USA) wurde das Patent WO2018134403A1 (von Michael Boettcher & Tobias Fuchs) erworben und die Firma plant nun eine klinische Studie zur Prävention von Adhäsionen im Verlauf von 2026.

5.1 Beteiligte Promovierende

Name	Thema	Status	Zeitraum	DFG-Finanzierung
Lavinia Schönfeld (MD)	NETs & Visualisierung	beendet	04/21–09/21	-
Annika Heuer (MD)	NETs & Wundheilung	beendet	10/21–09/22	-
Charlotte Dücker (MD)	NETs & Peritonealdialyse	beendet	10/22–03/25	-
Yuping Lu (PhD candidate)	NETs & METs bei Adhäsionen	beendet	10/22–02/26	10/2021–09/24
Richard Elrod (MD)	Neutrophile & Makrophagen bei thermischen Verletzungen	laufend	Since 10/24	-
Jonathan Hudson (PhD candidate)	Neutrophile & Makrophagen bei Adhäsionen	laufend	Since 10/24	-