

Aus der Kinderchirurgischen Klinik und Poliklinik

im

Dr. von Haunerschen Kinderspital

Klinikum der Universität

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Oliver Muensterer



Klinische Bedeutung von molekularen Mechanismen in der Kinderchirurgie

Kumulative Habilitationsschrift zur Erlangung der Venia Legendi

für das Fach Kinderchirurgie

der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von Dr. med. Danielle Sabina Wendling-Keim

Beschluss der Fakultätsratssitzung Juli 2022

Fachmentorat:

Prof. Dr. med. Oliver Muensterer

Prof. Dr. med. Heinrich Schmidt

Prof. Dr. rer. nat. Roland Kappler

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

- 1.1 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der normalen Entwicklung und bei der Entstehung von Tumoren im Kindesalter
- 1.2 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs für den Verlauf von infantilen Hämangiomen der Haut
- 1.3 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der Entstehung von infantilen Hämangiomen in der Leber
- 1.4 Die Rolle der Hedgehog Signalwegs bei der Entstehung von Kraniosynostosen und die Therapie von Kraniosynostosen

2. Ergebnisse eigener wissenschaftlicher Arbeiten

2.1 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der Entstehung von kindlichen Tumoren

2.2 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs für den Verlauf von Hämangiomen

- a. Aktivierung des Hedgehog Signalwegs in infantilen Hämangiomen der Haut mit aggressivem Verlauf
- b. Aktivierung des Hedgehog Signalwegs in aggressiven hepatischen Hämangiomen bei Neugeborenen und Säuglingen

2.3 Die Therapie von Schädeldeformitäten

- a. Die Osteoklastische Kraniektomie des Skaphocephalus bei Säuglingen führt zu physiologischer Kopfform
- b. Ein neuer Parameter für das Management des lagerungsbedingten Plagiozephalus: die Größe der vorderen Fontanelle

3. Zusammenfassung und Ausblick

4. Literaturverzeichnis

5. Verzeichnis eigener wissenschaftlicher Publikationen

- a. Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor
- b. Originalarbeiten als Coautor
- c. Reviews
- d. Buchkapitel

6. Ausgewählte Originalarbeiten als Erst-, Letzt- und Coauthor
7. Lehrtätigkeitsbescheinigung
8. Curriculum Vitae
9. Danksagung

1. Einleitung

Die Kinderchirurgie deckt ein weites Feld an angeborenen und erworbenen Erkrankungen ab. Hierzu gehören unter anderem angeborene Fehlbildungen wie auch embryonale oder kongenitale Tumoren und die Kindertraumatologie. Entsprechend vielfältig ist auch die kinderchirurgische Forschung. Die experimentelle Forschung und die klinische Forschung ergänzen sich hier, die translationale Forschung kann die Ergebnisse aus dem Labor für die Anwendung in der Praxis initialisieren.

Ziel der Forschungsarbeiten ist es, nicht nur die Todesfälle bei Kindern, die durch Tumore verursacht werden, sondern auch die Spätfolgen durch die Therapie (1), durch eine stetige Optimierung der Therapie, zu reduzieren und so auch die Lebensqualität der Patienten zu verbessern. Dies könnte durch eine gezielte Blockade von relevanten Komponenten in Signalkaskaden, die eine Schlüsselrolle bei der Tumorentstehung spielen, ermöglicht werden. Da der Hedgehog Signalweg bekannter Weise bei der Entstehung von Tumoren im Kindesalter eine entscheidende Rolle übernimmt (2), haben wir in unseren Studien verschiedene Zielgene des Hedgehog Signalwegs untersucht, um potenzielle Therapieansatzpunkte und Prognosefaktoren identifizieren zu können. Während wir in den eben angesprochenen Studien die Pathogenese und Verlaufsprognose auf molekularer Ebene analysierten, fokussierten wir die weiteren Studien der Analyse von Patienten mit Kraniosynostose, die ebenfalls u.a. durch eine Dysregulation des Hedgehog Signalwegs bedingt ist (3) insbesondere auf klinische Fragen und evaluierten hier die Therapie der sagittalen Nahtsynostose und ihrer wichtigsten Differenzialdiagnose, des lagerungsbedingten Plagiozephalus, da hier die optimale Behandlungsmethode immer noch umstritten ist.

Im Folgenden werden die verschiedenen Teilaspekte der Habilitationsschrift und deren Hintergrund sowie Zielsetzung dargelegt.

1.1 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der normalen Entwicklung und bei der Entstehung von Tumoren im Kindesalter

Während der normalen Entwicklung wie auch bei der Entstehung von Tumoren im Kindesalter spielt der Hedgehog Signalweg eine grundlegende Rolle (2), und er bestimmt das Zellschicksal in einer Vielzahl von Geweben, einschließlich Gehirn, Muskel und Haut (4,5). Die Kernkomponenten dieses Signalwegs sind das Morphogen Sonic Hedgehog (Shh) und sein Rezeptor Patched 1 (Ptch1), der das Transmembranprotein Smoothed (Smo) hemmt. Die Bindung von Shh an Ptch1 setzt seine Hemmfunktion außer Kraft und führt zur Aktivierung der Gli-Krüppel-Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren Gli1, Gli2 und Gli3 (6).

Die konstitutive Aktivierung des Hedgehog Signalwegs führt zur Bildung von Tumoren, einschließlich des Basalzellkarzinoms (BCC), des Medulloblastoms (MB) und des Rhabdomyosarkoms (RMS)(7). Keimbahnmutationen im PTCH1-Gen wurden bei Patienten mit Nävoid-Basalzellkarzinom-Syndrom (NBCCS) gefunden, die für BCC, MB, RMS und andere Tumoren prädisponiert sind (8). Entsprechend entwickeln Ptch1-defiziente Mausstämme Tumoren, die mit denen beim Menschen mit NBCCS vergleichbar sind, einschließlich BCC, MB und RMS. Diese Tumoren über-exprimieren konsistent stromabwärts gelegene Zielgene des aktivierten Hedgehog Signalwegs wie Gli1, Igf2 und Ptch1 selbst (9).

Ein weiteres Zielgen des Hedgehog Signalwegs ist das Forkhead-Box-Protein Foxf1. Dieses gehört zur Superfamilie der Forkhead / Winged-Helix-Transkriptionsfaktoren, die die Zellproliferation, -differenzierung und die metabolische Homöostase regulieren. Die Foxf1-Expression in der Maus beginnt 6,5 Tage post coitum und ist für die Entwicklung von aus dem

Endoderm stammenden Organen wie Speiseröhre, Luftröhre, Lunge und Darm sowie von Kopf und Gehirn essentiell (10–16). Da Foxf1 während der frühen Entwicklung eine wichtige Rolle spielt, sterben Foxf1-Knock-out-Mäuse in der Gebärmutter (15). Dieser Transkriptionsfaktor wird jedoch auch im Erwachsenenalter in Lunge, Leber, Darm und Gehirn exprimiert (11,12,16–18). Interessanterweise führt die Foxf1-Haploinsuffizienz bei der Maus zu denselben Defekten der Lunge, des Vorderdarms, der Luftröhre und der Speiseröhre, die bei den Shh-, Gli2- und Gli3-Mutanten auftreten (11). Unsere Gruppe hat über die Foxf1-Überexpression in RMS von Mäusen mit Ptch1-Haploinsuffizienz berichtet, die einen konstitutiv aktivierten Hedgehog Signalweg zeigen (19). Insgesamt legten diese Studien nahe, dass Foxf1 ein mutmaßliches Zielgen für die Hedgehog Signalübertragung ist.

1.2 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs für den Verlauf von infantilen Hämangiomen der Haut

Infantile Hämangiome sind endotheliale Neoplasien und gehören zu den häufigsten gutartigen Tumoren, die im Säuglingsalter diagnostiziert werden (20). Die berichtete Inzidenz von 3-10% (21) hat in den letzten 35 Jahren zugenommen (22,23). Frühgeborene haben ein höheres Risiko, ein infantiles Hämangiom zu entwickeln, mit einer Inzidenz von bis zu 30%, wobei hier das Geburtsgewicht der Hauptgrund für das erhöhte Risiko ist. Mädchen sind häufiger betroffen (24). Charakteristischerweise folgt auf die schnelle Proliferation dieser Gefäßtumoren in einer ersten Entwicklungsphase (Phase 1) während der ersten 6 Lebensmonate eine Plateau-Phase (Phase 2), die bis zum etwa 12. Lebensmonat dauert. Während der Phase 3 beginnt die Involution und dauert bis zu 4-6 Jahre (25,26). Darauf kann eine Ruhe- oder vierte Phase folgen. Während der Proliferation sind die Blutgefäße

unorganisiert und bestehen aus unreifen Endothelzellen, die Involutionsphase ist durch den Ersatz dieser Gefäße durch Fett, Fibroblasten und Bindegewebe gekennzeichnet ist (27).

Die meisten Hämangiome sind harmlos, aber die Proliferationsrate und die endgültige Dimension können variieren (28). Abhängig von der Lokalisation der Hämangiome können Komplikationen auftreten, wie z. B. eine Atemwegskompression durch subglottische Hämangiome, Ernährungsstörungen durch periorale und Atemwegshämangiome, eine Deprivations-Amblyopie durch Hämangiome des Augenlids und Blutungen durch Ulzerationen sowie schwere Narben und Aussackungen der Haut. Große oder multiple Hämangiome können eine High-Output- bedingte Herzinsuffizienz verursachen(29).

Das wichtigste diagnostische Instrument für das Hämangiom ist die Doppler-Sonographie, die eine Raumforderung mit hoher Perfusion aufdecken kann. Zur weiteren Untersuchung oder zur Bestimmung des Ausmaßes und der anatomischen Lagebeziehung zu den Nachbarorganen eines Hämangioms können MRT-Untersuchungen durchgeführt werden (24,30). Dennoch ist es bisher nicht möglich, Hämangiome mit raschem und massivem Wachstum im Anfangsstadium von Hämangiomen mit mildem Verlauf zu unterscheiden.

Die Therapie des infantilen Hämangioms wurde durch die Entdeckung der Wirkung von Propranolol auf Hämangiome revolutioniert, so dass die ehemaligen Behandlungsformen, wie die chirurgische Resektion sowie Laser- und Kryotherapien, in den Hintergrund geraten sind (31,32). Insbesondere für Hämangiome, die ein rasches Wachstum und eine ausgeprägte Größenprogredienz zeigen, ist eine frühzeitige Intervention notwendig.

Infantile Hämangiome bestehen aus unreifen und unorganisierten Endothelzellen und enthalten auch endotheliale Vorläuferzellen (33). Bei Hämangiomen wurden unter anderem Veränderungen der VEGF- und NOTCH-Signalübertragung gefunden, und es wurden Studien veröffentlicht, die auf einen plazentaren Ursprung von Endothelzellen bei Hämangiomen

hinweisen (34–37). Darüber hinaus wurde Fibroblast Growth Factor (FGF2) als Marker für Hämangiome beschrieben, jedoch im Hinblick auf sein Expressionsniveau während der Proliferation im Vergleich zur Involution kontrovers diskutiert (38,39). Glucose transporter 1 (GLUT1) ist ein weiterer häufig verwendeter Marker für infantile Hämangiome (40). Bisher sind die Ätiologie und Pathogenese des infantilen Hämangioms jedoch nicht vollständig geklärt.

Insbesondere wurden bisher keine Marker gefunden, um infantile Hämangiome mit besonders starkem und raschem Wachstum zu erkennen, die eine frühzeitige Intervention erfordern. Entscheidend für die Therapieplanung ist das frühzeitige Erkennen von Hämangiomen, die aufgrund von raschem und massivem Wachstum klinische und kosmetisch-entstellende Komplikationen verursachen und therapiert werden müssen.

Da wir uns in der Arbeitsgruppe bereits im Vorfeld mit dem Hedgehog Signalweg auseinandergesetzt hatten, war ein Ansatz für die Charakterisierung und Erkennung von rasch wachsenden therapiebedürftigen Hämangiomen in unserer Studie die Untersuchung der Bedeutung des Hedgehog Signalwegs für die Entwicklung von Hämangiomen. Wie oben erwähnt, ist der Hedgehog Signalweg an der Embryonalentwicklung beteiligt, und es wurde bereits gezeigt, dass seine Dysregulation Entwicklungsfehlbildungen sowie die Entstehung von Tumoren verursacht (41). Frühere Arbeiten haben außerdem gezeigt, dass der Hedgehog Signalweg auch verschiedene Aspekte der Gefäßentwicklung und der postnatalen Angiogenese reguliert, einschließlich der Bildung von Gefäßröhrchen (42). Die Rolle der Hedgehog Signalübertragung bei der Pathogenese des infantilen Hämangioms ist bisher jedoch noch nicht geklärt.

In unserer Studie haben wir versucht, Prognosemarker zu bestimmen, die auf Hämangiome mit starker Progression hinweisen, wobei ein besonderer Schwerpunkt auf Genen des Hedgehog Signalwegs lag.

1.3 Die Rolle des Hedgehog Signalswegs bei der Entstehung von infantilen Hämangiomen in der Leber

Hepatische Hämangiome (HH) sind Gefäßtumoren, die typischerweise bei Säuglingen auftreten. In ihrem klinischen Verhalten sind diese Tumoren meist harmlos. Manchmal zeigen sie jedoch einen aggressiven Verlauf mit erheblichen Komplikationen durch Blutungen, Herzinsuffizienzen, Ikterus oder raumfordernde Effekte. Prognostische klinische oder biologische Marker, die einen aggressiven von einem gutartigen Verlauf unterscheiden können, fehlen vollständig (43,44). Mit 16% aller Lebertumoren im Säuglingsalter ist das HH der häufigste Gefäßtumor und der häufigste gutartige Lebertumor bei Kindern (45).

Die Terminologie von Gefäßläsionen in der Leber und insbesondere von angiomatösen Läsionen bei Kindern ist in der gesamten Literatur eher verwirrend. Diese Unsicherheit ist hauptsächlich auf die synonyme Verwendung der Begriffe Hämangiom und Hämangioendotheliom sowie auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Nomenklatur in letzter Zeit mehrere Änderungen erfahren hat (46). Der Begriff Hämangioendotheliom wurde früher verwendet, um eine Vielzahl von Gefäßneoplasmen zusammenzufassen, einschließlich Gefäßfehlbildungen oder Läsionen mit einem grenzwertigen biologischen Verhalten zwischen gutartigen infantilen Hämangiomen und hoch malignen Angiosarkomen (47,48).

Laut dem Vascular Anomalies Center des Boston Children's Hospital werden HHs nun in drei Kategorien unterteilt: i) fokal, ii) multifokal und iii) diffus, abhängig von ihren klinischen und radiologischen Eigenschaften (43). Fokale Läsionen sind GLUT1 negativ in der

Immunhistochemie und werden als das Äquivalent des schnell involutierenden kutanen Hämangioms (RICH) angesehen. Folglich handelt es sich um echte angeborene Läsionen (43). Im Gegensatz dazu zeigen das multifokale infantile hepatische Hämangiom und das diffuse infantile hepatische Hämangiom eine GLUT1-positive Färbung in der Immunhistochemie (43,49).

Der Begriff Hämangioendotheliom ist inzwischen speziellen Tumorentitäten vorbehalten, beispielsweise dem kaposiformen Hämangioendotheliom (KHE), einem aggressiven Gefäßtumor der Haut und der Weichteile (50). Obwohl der Begriff Hämangioendotheliom in Bezug auf angiomatöse Läsionen in der Leber als veraltet angesehen wird, verwenden einige Autoren weiterhin den Begriff infantiles hepatisches Hämangioendotheliom, um eine Untergruppe angiomatöser Gefäßläsionen der Leber zu beschreiben, von denen angenommen wird, dass sie mit schnellem Wachstum assoziiert sind sowie mit dem Potenzial für einen aggressiveren Verlauf, einschließlich des Risikos für das Kasabach-Merritt-Syndrom (KMS) (51,52).

Die meisten vaskulären Läsionen der Leber, einschließlich der HH, werden bei Kindern in den ersten 6 Lebensmonaten diagnostiziert, und auch hier sind Mädchen häufiger betroffen (53). Die meisten Läsionen sind harmlos, es können jedoch schwerwiegende Symptome wie eine High-output Herzinsuffizienz, vorübergehende Thrombozytopenie und Koagulopathie sowie ein Ikterus auftreten (54). Darüber hinaus wurde berichtet, dass maligne Sarkome wie Angiosarkome auf dem Boden bestehender HH auftreten (55,56).

Wie bei infantilen Hämangiomen der Haut folgt auf die schnelle Proliferation in den ersten 6 Lebensmonaten während der Phase 1 eine Plateau-Phase (Phase 2) bis etwa 12 Monate. Während der Phase 3 beginnt die Involutionsphase und dauert bis zu 4-6 Jahre (57). Bei HH können diese Stadien jedoch intensiviert und verlängert sein, und symptomatische Patienten

müssen aufgrund des hohen Risikos schwerer Komplikationen frühzeitig behandelt werden (54). Obwohl medizinische Behandlungsmethoden wie Propranolol (22-27), Kortikosteroide und Interferon-alpha (INF- α) verfügbar sind(58,59), ist es bei einigen Kindern erforderlich, auf interventionelle Therapien wie die chirurgische Resektion und sogar Lebertransplantation zurückzugreifen (60,61). Für diese chirurgischen Eingriffe bei vaskulären Lebertumoren wurde ein hohes Komplikationsrisiko beschrieben (54).

Histologisch besteht das HH aus unreifen und unorganisierten Endothelzellen, die auch endotheliale Vorläuferzellen enthalten (36). Traditionell wurden diese Läsionen in Typ 1 und Typ 2 unterteilt (62). Beide Typen bestehen aus einem unterstützenden fibrösen Stroma, auf dem die Endothelzellschicht sitzt. Bei Typ-1-Läsionen bestehen Zellen aus einer einzelnen Endothelzellschicht oder sehr sporadisch aus mehreren Schichten. Bei Typ-2-Läsionen sind Endothelzellen pleomorph, größer und hyperchromatischer. Typ-1-Läsionen zeigen typischerweise gut erhaltene Gallengänge, insbesondere in der Peripherie der Läsion. Bei Typ-2-Läsionen fehlen die Gallenwege vollständig (48). Manchmal kann die Unterscheidung der Typ-2-Läsionen vom Angiosarkom schwierig sein. Diese Ähnlichkeit hat zu dem weit verbreiteten, aber letztendlich unbewiesenen Eindruck geführt, dass Typ-2-Läsionen mit einem aggressiveren klinischen Verhalten assoziiert sind.

Das KHE ist ein Gefäßtumor, der Haut, Subkutis und Muskeln infiltriert und durch das KMS kompliziert werden kann. Obwohl es lokal sehr ausgedehnt und aggressiv wächst, metastasiert es nicht. Ähnlich wie fokale HH und im Gegensatz zum diffusen und multifokalen HH exprimiert das KHE GLUT1 nicht (50,63–65). Charakteristischerweise besteht die Läsion aus mehreren festen Knötchen, die durch Bindegewebe voneinander getrennt sind. Diese bestehen aus einer Mischung kleiner Kapillaren, fester Läppchen von Endothelzellen und Spindelzellen (66,67).

Bisher sind die Ätiologie und Pathogenese von HH unbekannt (60). Ferner ist noch unklar, welche biologischen Eigenschaften die große Mehrheit der harmlosen Fälle von den wenigen unterscheidet, die ein aggressives Wachstum mit hoher Morbidität zeigen. Obwohl der Hedgehog Signalweg an der Embryonalentwicklung, Vaskularisierung und Stammzellendifferenzierung beteiligt ist, wurde seine Rolle für die Pathogenese von HH bislang nicht untersucht. In einer früheren Studie (68) haben wir eine Überexpression der Hedgehog Komponenten SHH, GLI2 und FOXA2 bei infantilen Hämangiomen der Haut mit besonders aggressivem Fortschreiten festgestellt, die eine frühzeitige Resektion erfordern. Diese Ergebnisse sind von hoher Relevanz, da der HH-Signalweg möglicherweise pharmazeutisch gezielt therapiert werden kann. Ziel dieser Studie war es daher zu untersuchen, ob Komponenten des Hedgehog Signalwegs auch in aggressiven hepatischen Hämangiomen überexprimiert sind und auch hier als potenzielle Prognosemarker zur Planung von frühzeitigen medikamentösen oder interventionellen Therapien eingesetzt werden können.

1.4 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der Entstehung von Kraniosynostosen und die Therapie von Kraniosynostosen

Der Hedgehog Signalweg übernimmt auch bei der Entwicklung der Schädelkalotte und des Gesichtsschädels eine entscheidende Rolle. Initial wurde bereits in den 60er Jahren die Entstehung einer Holoprosenzephalie, einer komplexen Hirnfehlbildung, bei Schafen entdeckt, deren Mutterschafe während der Trächtigkeit Pflanzenalkaloide auf der Weide gefressen hatten. Die Alkaloide blockierten den Hedgehog Signalweg und so auch die normale Entwicklung des Schädels (69,70). Im Weiteren wurden Mutationen des Gens *SHH* entdeckt, die eine Holoprosencephalie verursachten (71).

Interessanterweise haben Untersuchungen der Suturen während der Entwicklung gezeigt, dass vor allem der Ligand Sonic Hedgehog (SHH) im Bereich des Mesenchyms der Schädelnähte nachgewiesen werden konnte, so dass davon ausgegangen wird, dass das Gen *SHH* zusammen mit anderen Genen wie *FGF2* und *BMP4* benötigt wird, damit die Schädelnähte lang genug offen bleiben (3).

Dies ist sehr wichtig, damit durch die Weichheit offener Schädelnähte der Schädel während der Geburt seine Form anpassen kann, und vor allem, damit sich das wachsende Gehirn während der Entwicklung ausdehnen kann.

Die Kraniosynostose, der vorzeitige Verschluss von Schädelnähten, führt zu charakteristischen Schädeldeformitäten. Die Form der Deformität hängt von der betroffenen Naht ab (72,73). Die nicht-syndromale Kraniosynostose tritt mit einer Häufigkeit von 1:200 bis 1:500 Säuglingen auf (74). Ein erhöhtes Risiko für entwicklungsneurologische Defizite sowie für einen erhöhten Hirndruck bedingt durch die Kraniosynostose werden als Indikation für eine operative Korrektur diskutiert (72,73,75,76). Frühere Fallberichte haben gezeigt, dass einige Patienten mit einer Kraniosynostose in den ersten Lebensjahren aufgrund eines erhöhten Hirndrucks zusätzlich ein Papillenödem entwickeln können (77,78).

Die sagittale Nahtsynostose ist mit einer Inzidenz von 1: 3000-5000 Geburten die häufigste Form der Kraniosynostose (76). Typischerweise zeigt sich der frühe sagittale Nahtverschluss als länglicher Kopf, der durch einen schmalen und niedrigen Hinterkopf, eine sattelförmige parietale Region und ein wahrnehmbares frontales „Bossing“ gekennzeichnet ist (79). Mögliche chirurgische Methoden umfassen die osteoklastische Kraniektomie (OC) mit oder ohne offene Kalottenrekonstruktion, die minimalinvasive Streifenkraniektomie mit postoperativer Helmtherapie oder die Schäfeldistraktion und frontale Knochenkranioplastik

(75,80,81). Bislang werden die verschiedenen Methoden in unterschiedlichen Kliniken angewandt, es besteht jedoch kein Konsens über die bevorzugte Behandlungsoption.

Um diese Debatte zu ergänzen, haben wir die intra- und postoperativen Verläufe und Langzeitergebnisse nach OC zur Behandlung der sagittalen Naht-Synostose bei Kindern analysiert. Die Beurteilung von Kopfwachstum, Kopfumfangs und des Cephalic Index (CI) wurde als Parameter für normale Kopfformen bei Kindern (82) evaluiert. Ziel unserer Studie war es zu untersuchen, ob die OC bei vier- bis zehnmonatigen Kindern mit Skaphozephalie zu normalen Kopfformen führt.

Von diesen kongenitalen Nahtsynostosen muss allerdings der lagerungsbedingte Plagiozephalus unterschieden werden. Hier handelt es sich um eine erworbene Abflachung des Säuglingsköpfchens, die als Folge von Druck durch eine Vorzugshaltung mit Auflegen des Köpfchens in diesem Bereich entsteht und nicht durch einen vorzeitigen Verschluss der Nähte (83). Leitlinien zur Prävention des plötzlichen Kindstods (SIDS) führten bereits 1992 zu der allgemeinen Empfehlung, Säuglinge während des Schlafens auf dem Rücken zu positionieren und damit die Rate des plötzlichen Kindstodes signifikant zu senken (84). Mit der Befolgung Veröffentlichung/Bekanntwerden dieser Empfehlungen wurde jedoch eine erhöhte Abflachungsrate des Hinterkopfes beobachtet, so dass ein Zusammenhang zwischen Rückenlage und Plagiozephalie vermutet wurde, obwohl bisher keine Kausalität nachgewiesen wurde (85,86). Frühere Studien haben gezeigt, dass der Prozentsatz der Plagiozephalie mit zunehmendem Alter des Kindes abnimmt, so dass 16% der Säuglinge im Alter von 6 Wochen Anzeichen einer Plagiozephalie aufweisen, während nur 3,3% der 2-jährigen Kinder und 1% der 5-jährigen Kinder Schädeldeformitäten zeigen (85). Die Differentialdiagnose sowie Prävention und Behandlung sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und Diskussionen (85,87). Bei Säuglingen mit schwerer lagerungsbedingter

Plagiozephalie spielen die potenziellen psychosozialen Auswirkungen eines nicht zufriedenstellenden kosmetischen Ergebnisses bei Routinebesuchen beim Kinderarzt eine wichtige Rolle. Bisher besteht kein Konsens über die Behandlung der lagerungsbedingten Plagiozephalie. Abhängig vom Alter des Kindes und der Schwere der Deformität kann die Behandlung eine aktive Lagerungstherapie, Physiotherapie und eine Therapie mit einer dynamischen Kranio-Orthese (Helmtherapie) umfassen. Die Hauptdiskussionspunkte sind Indikation zur Helmtherapie und wann diese beginnen soll. Interessanterweise hat eine vom Kongress der Neurochirurgen durchgeführte Metaanalyse ergeben, dass bisher spezifische Kriterien für die Erfassung der Deformität und das geeignete Zeitfenster für die Behandlung nicht definiert wurden. Obwohl Kinder mit schwererer Plagiozephalie, die früh im Säuglingsalter behandelt werden, bessere Ergebnisse zu zeigen scheinen, sind diese Kriterien eher vage (83,88). Darüber hinaus ist eine kürzlich durchgeführte prospektive Studie zu dem Schluss gekommen, dass eine Helmtherapie das Outcome bei lagerungsbedingtem Plagiozephalus im Vergleich zum Spontanverlauf mit Lagerungs- und Physiotherapie nicht verbessert (89). Angesichts dieser widersprüchlichen Veröffentlichungen war es daher Ziel unserer Studie, zum einen das Outcome bei Patienten mit Plagiozephalus, die mit Lagerungstherapie und Physiotherapie behandelt wurden, mit Patienten zu vergleichen, die mit einer Helmtherapie behandelt wurden, und zum anderen, Kriterien zu definieren, die zur Initiierung einer Helmtherapie veranlassen sollten.

2. Ergebnisse eigener wissenschaftlicher Arbeiten

2.1 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs bei der Entstehung von kindlichen Tumoren

Die Schlüsselrolle des Transkriptionsfaktors Foxf1 in Tumoren mit konstitutiv aktiviertem Hedgehog Signalweg

Wendling DS, Lück C, von Schweinitz D, Kappler R.

Characteristic overexpression of the forkhead box transcription factor Foxf1 in Patched-associated tumors.

Int J Mol Med. 2008;22(6):787-792.

Patienten mit Nävoidbasalzellkarzinomsyndrom (NBCCS) tragen Keimbahnmutationen im Tumorsuppressorgen Patched 1 (PTCH1) und sind prädisponiert, Basalzellkarzinome (BCC), Medulloblastome (MB) und Rhabdomyosarkome (RMS) zu entwickeln. Diese Tumoren sind auch im heterozygot deletierten $Ptch1^{neo67/+}$ Mausmodell zu finden. (7) Frühere Studien, einschließlich der von Kappler et al., 2003 (9), haben gezeigt, dass der Forkhead-Box-Transkriptionsfaktor Foxf1 in RMS beim Menschen und bei der Maus überexprimiert ist. Wir berichten in unserer Studie darüber hinaus, dass Foxf1 bei weiteren Ptch1-assoziierten Tumoren eine entscheidende Rolle spielt, da wir eine auffällige Hochregulierung der *Foxf1*-Expression in den Ptch1-assoziierten Tumorentitäten BCC und MB im Vergleich zum jeweiligen nicht-neoplastischen Gewebe gefunden haben. Diese Überexpression ging einher mit einer Überexpression auch des Hh-Transkriptionsfaktors Gli1 sowie der potenziellen Foxf1-Zielgene *Bmi1* und *Notch2* in diesen Tumoren. Wir detektieren zudem eine auffällige Foxf1-Aktivierung in homozygot deletierten $Ptch1^{neo67/neo67}$ Embryonen, in denen der Hh-Signalweg ebenfalls hochreguliert ist. Im Gegensatz dazu wurden nur basale Expressionslevel von *Foxf1*, *Gli1*, *Bmi1* und *Notch2* in einer Vielzahl von erwachsenen Mausgeweben wie Leber, Niere, Milz, Lunge, Herz und Gehirn nachgewiesen. Zusammenfassend legt unsere Studie somit nahe, dass die Foxf1-Expression in Tumoren, denen ein konstitutiv aktivierter Hh-

Signalweg zugrunde liegt, charakteristischerweise hochreguliert ist, sodass wir hier eine Schlüsselrolle für Foxf1 bei der Hh-assoziierten Tumorigenese nachweisen konnten (Abbildung 1 aus <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19020777/>).

Abbildung 1. (A) Überexpression von Foxf1 und Gli1 in Ptch1^{neo67} / neo67-Embryonen. Die Foxf1- und Gli1-Expression in Ptch1^{neo67/neo67}-Embryonen wurde mittels der semi-quantitativen RT-PCR analysiert. Die Expression von β -Actin zur Relation der Proben-RNA erhoben. (B) Die Hedgehog Signalkaskade: Bindung des Sonic Hedgehog (Shh) -Proteins an seinen Rezeptor Patched 1 (Ptch1) hemmt das Transmembranprotein Smoothened (Smo) und führt zur Aktivierung von Gli-Transkriptionsfaktoren. Die neuen Zielgene Foxf1, Bmi1 und Notch2 sind innerhalb des Hedgehog Signalwegs distal zu Gli dargestellt. *Int J Mol Med.* 2008;22(6):787-792.

2.2 Die Rolle des Hedgehog Signalwegs für den Verlauf von Hämangiomen

- a. Aktivierung des Hedgehog Signalwegs in infantilen Hämangiomen der Haut mit aggressivem Verlauf

Wendling-Keim DS, Wanie L, von Schweinitz D, Grantzow R, Kappler R.

Transcriptional activation of Hedgehog pathway components in aggressive haemangioma.

Exp Dermatol. 2017;26(10):934-939. doi:10.1111/exd.13346

Das infantile Hämangiom ist eine vaskuläre Neoplasie und einer der häufigsten Tumoren bei kleinen Kindern (20). Obwohl die meisten Hämangiome harmlos sind und sich spontan zurückbilden, zeigen einige von ihnen eine schwere Progression, die zu schweren Komplikationen führt, wie z. B. einer High-output-bedingten Herzinsuffizienz, Ulzerationen, einer Kompression der Atemwege, schweren kosmetischen Entstellungen oder einer Amblyopie, je nach Größe und Lokalisation des Hämangioms (29). Die Pathogenese des Hämangioms, und v.a. die Ursache für den schweren Verlauf bei manchen Patienten, sind jedoch bis heute weitgehend unbekannt. Der Fokus dieser Studie war es daher, Marker zu identifizieren, die Hämangiome mit aggressivem Wachstum und rascher Progression vorhersagen könnten, da diese von einer frühen Intervention profitieren würden. Durch eine

Q-PCR-basierte Expressionsanalyse könnten wir im Rahmen eines Screenings zunächst bestätigen, dass zuvor bekannte Marker des infantilen Hämangioms, nämlich FGF2 und GLUT1 (38),(39), (40) in unseren Hämangiom-Proben ebenfalls stark exprimiert sind. Dennoch zeigten diese Gene keine Unterschiede in der Expression zwischen rasch wachsenden Hämangiomen mit ausgedehnter Größe und Hämangiomen mit mildem Verlauf. Dagegen konnten wir interessanterweise eine signifikante Überexpression mehrerer Hedgehog Signalkomponenten, darunter der Ligand Sonic Hedgehog (SHH), der Transkriptionsfaktor GLI2 und sein Zielgen FOXA2, in Hämangiomen mit besonders aggressivem Verlauf während der Proliferationsphase nachweisen. Bemerkenswert ist dabei, dass GLI2 sogar in Hämangiomen in der Involutionsphase überexprimiert wurden, wenn sie ein aggressives Wachstumsmuster zeigten.

Zusammenfassend deuten unsere Daten darauf hin, dass FGF2 und GLUT1 allgemeine Marker für die Entität des infantilen Hämangioms sind, während wir zeigen konnten, dass eine Überexpression der Hedgehog Komponenten SHH, GLI2 und FOXA2 als potentielle Marker für Hämangiome mit aggressivem Wachstumsverlauf verwendet werden könnten, die dann von einer frühzeitigen Therapie profitieren würden (Abbildung 2 aus <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28370639/>).

Abbildung 2. Modell des Verlaufs des Hämangiomwachstums basierend auf Markern dieser Studie. Die rote Kurve zeigt das Wachstumsmuster von Hämangiomen mit raschem Fortschreiten, bei denen eine hohe Expression von SHH, GLI2 und FOXA2 gefunden wurde, während die blaue Kurve den Verlauf von Hämangiomen mit mildem Verlauf darstellt, die entsprechend niedrigere Expressionsniveaus dieser genannten Gene aufweisen (modifiziert von Mulliken und Glowacki, 1982(25)). Die Bilder zeigen die Hämangiome während ihres Wachstums und ihrer Regression und nach Resektion vor dem letzten Bild. Exp Dermatol. 2017;26(10):934-939. doi:10.1111/exd.13346

- b. Aktivierung des Hedgehog Signalwegs in aggressiven hepatischen Hämangiomen bei Neugeborenen und Säuglingen

Wendling-Keim D, Vokuhl C, Walz C, Rieder L, Grantzow R, VON Schweinitz D, Kappler R, Berger M. Activation of Hedgehog Signaling in Aggressive Hepatic Hemangioma in Newborns and Infants.

Anticancer Res. 2019;39(5):2351-2360. doi:10.21873/anticancerres.13352

Hepatische Hämangiome (HH) bei Säuglingen und Kleinkindern können einen Verlauf mit raschem Wachstum und erheblichen Komplikationen aufweisen. Hier fehlen ebenfalls Prognosemarker, die einen aggressiven Verlauf identifizieren können. Da wir gezeigt haben, dass Hedgehog Komponenten bei Hämangiomen der Haut mit rascher Progredienz überexprimiert werden, untersuchten wir als nächstes, ob auch hepatische Hämangiome mit aggressivem Verlauf durch das Expressionslevel der Hedgehog Komponenten von Hämangiomen mit mildem Verlauf differenziert werden können.

Die Überexpression der Hedgehog Signalkomponenten SHH und GLI2 und ihres Zielgens FOXA2 in HH war ähnlich wie bei Hauthämangiom mit raschem Wachstum und KHE; denn ihre Expression war signifikant höher als bei mildem Hauthämangiom.

Somit ist auch in hepatischen Hämangiomen der Hedgehog Signalweg hochreguliert bei Patienten mit aggressiven Verläufen so dass auch hier die Expression der Hedgehog Komponenten als potenzieller Prognosemarker denkbar ist, der in diesen Fällen dann eine frühzeitige Intervention ermöglicht (s. Abbildung 3 aus <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31092427/>).

Abbildung 3. Die Komponenten des Hedgehog Signalwegs SHH, GLI2 und FOXA2 werden in HH signifikant überexprimiert. Expressionsniveaus von SHH (A), GLI2 (B) und FOXA2 (C) sind für HH- und Kontrollgewebe gezeigt. * $p < 0,05$. Anticancer Res. 2019;39(5):2351-2360. doi:10.21873/anticancerres.13352

2.3 Die Therapie von Schädeldeformitäten

- a. Die Osteoklastische Kraniektomie des Skaphocephalus bei Säuglingen führt zu physiologischer Kopfform

Lehner M, Ferrari-von Klot F, Zundel S, Wendling-Keim D.

Osteoclastic craniectomy for scaphocephaly in infants results in physiological head shapes.

J Craniomaxillofac Surg. 2019;47(12):1891-1897. doi:10.1016/j.jcms.2019.10.006

In unserer Studie analysierten wir die erzielte Kopfform nach osteoklastischer Kraniektomie (OC) bei Kindern im Alter von vier bis zehn Monaten. Das durchschnittliche Patientenalter zum Zeitpunkt der Operation betrug 7 Monate. Während der mittleren Nachbeobachtungszeit von 6 Jahren wurde der Schwerpunkt auf das Kopfwachstum und den Cephalic-Index (CI) des Patienten nach der OC gelegt. Die Auswertung des CI zeigte eine signifikante Veränderung von einem pathologischen Wert von 0,67 (Mittelwert) präoperativ auf einen Normalwert von 0,78 (Mittelwert) gegen Ende der Nachbeobachtungsperiode. Alle Patienten zeigten während der Nachbeobachtungszeit eine nahezu vollständige Re-Ossifikation. Bei keinem Patienten dieser Kohorte war eine sekundäre Operation erforderlich. Wir konnten daher zeigen, dass die OC den Cephalic Index signifikant verbesserte und zu einer symmetrischen Kopfform führte.

Nach diesen Daten können wir die osteoklastische Kraniektomie als Methode der Wahl bei Säuglingen mit Sagittalnahtsynostose im Alter von sechs bis zwölf Monaten empfehlen (Abbildung 4 aus <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31812312/>).

Abbildung 4. a) Präoperativer Aspekt eines typischen Befundes eines Scaphocephalus bei einem 4 Monate alten Patienten. (b) Postoperatives ästhetisches Ergebnis bei einem Patienten im Alter von 15 Monaten (8 Monate postoperativ). J Craniomaxillofac Surg. 2019;47(12):1891-1897. doi:10.1016/j.jcms.2019.10.006

- b. Ein neuer Parameter für das Management des lagerungsbedingten Plagiozephalus: die Größe der vorderen Fontanelle
Wendling-Keim DS, Macé Y, Lochbihler H, Dietz HG, Lehner M.
A new parameter for the management of positional plagiocephaly: the size of the anterior fontanelle matters.
Childs Nerv Syst. 2020;36(2):363-371. doi:10.1007/s00381-019-04215-y

Die Häufigkeit der Positionsplagiozephalie hat seit den 90er Jahren zugenommen, da Richtlinien zur Verhinderung des plötzlichen Kindstodes zu der Empfehlung geführt haben, Säuglinge während des Schlafens auf dem Rücken zu positionieren. Die Therapie des Plagiozephalus umfasst die Lagerungstherapie, Physiotherapie und Helmtherapie.

Bis heute gibt es keinen Konsens bezüglich der Indikation und der Therapie des lagerungsbedingten Plagiozephalus. Im Rahmen dieser Studie wurden die Ergebnisse der Physiotherapie/Lagerungstherapie und Helmtherapie verglichen. Zudem wurde untersucht, ob die Größe der vorderen Fontanelle als zusätzlicher Parameter für die Indikation der Helmtherapie verwendet werden kann. Wir konnten zeigen, dass die Remodellierungsrate in der Gruppe mit Helmtherapie deutlich höher war als in der Kontrollgruppe mit Physiotherapie. Bei Patienten mit einer kleinen Fontanelle wurde eine niedrigere spontane Remodellierungsrate beobachtet, die auf ihr geringeres Korrekturpotenzial hindeutet. Interessanterweise wurde gerade bei diesen Patienten die Asymmetrie durch eine Helmbehandlung signifikant schneller verbessert als bei der Physiotherapie, so dass diese Patienten aufgrund ihres ansonsten, bei kleiner Fontanelle reduzierten, spontanen Remodellierungspotenzials vom Helm profitieren können.

Somit führte die Helmtherapie in dieser Studie zu einer schnelleren Reduktion der Asymmetrie als die Physiotherapie. Bei Patienten mit einer kleinen vorderen Fontanelle und

damit geringerem Remodellierungspotenzial war die Helmbehandlung effektiver als die Physiotherapie.

3. Zusammenfassung und Ausblick

Der Hedgehog Signalweg spielt eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von verschiedenen Erkrankungen aus dem Gebiet der Kinderchirurgie, so dass die Komponenten dieser Signalkaskade potenzielle Ansatzpunkte sowohl für die Diagnostik und Prognose als auch für die Therapie darstellen. Daher wurden im Rahmen unterschiedlicher Studien die Expression und Bedeutung von Hedgehog Komponenten bei der Entstehung von embryonalen Tumoren wie das RMS, sowie für die Verläufe von infantilen Hämangiomen der Haut und von hepatischen Hämangiomen untersucht. Des Weiteren haben wir die Therapie der sagittalen Kraniosynostose evaluiert, bei deren Entstehung ebenfalls der Hedgehog Signalweg bedeutsam ist, und im Rahmen der kraniospinalen Sprechstunde und einer weiteren Studie klinische Parameter zur Therapieplanung der wichtigsten Differenzialdiagnose von Kraniosynostosen, nämlich des lagerungsbedingten Plagiozephalus, entwickelt. Diese Vorarbeiten liefern verschiedene Ansatzpunkte, um weitere Studien durchzuführen, um die hier detektierten Ergebnisse zur Entwicklung weiterer Therapiestrategien ausbauen zu können. Durch die Habilitation erhofft sich die Antragstellerin, ihre Forschungsarbeit für die Fakultät ausbauen, Drittmittelanträge stellen und Doktoranden selbstständig betreuen zu können.

Alle experimentellen Teile des Habilitationsprojektes wurden unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Roland Kappler im kinderchirurgischen Forschungslabor im Kubus des Dr. von Haunerschen Kinderspitals durchgeführt. Hier sind weitere Projekte auf dem Gebiet des Hedgehog Signalwegs geplant, u.a soll die Bedeutung und Therapiemöglichkeit von Hedgehog-assoziierten kindlichen Tumoren weiter untersucht werden. Die klinischen sowie die translationalen Studien sollen ebenfalls weiter ausgebaut werden, und anhand von

klinischen Daten, v.a. aus der Notfallversorgung, sind Studien zur Therapieoptimierung geplant. In diesem Zusammenhang sind auch weitere Projekte in Zusammenarbeit mit Herrn PD Dr. med. M. Lehner nach dessen Weggang als Co-Chefarzt der Kinderchirurgischen Klinik im Kinderspital Luzern auf dem Gebiet der kraniospinalen Kinderchirurgie geplant.

4. Literaturverzeichnis

1. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2014;64(2).
2. Raleigh DR, Reiter JF. Misactivation of Hedgehog signaling causes inherited and sporadic cancers. Vol. 129, Journal of Clinical Investigation. American Society for Clinical Investigation; 2019. p. 465–75.
3. Kim HJ, Rice DPC, Kettunen PJ, Thesleff I. FGF-, BMP- and Shh-mediated signalling pathways in the regulation of cranial suture morphogenesis and calvarial bone development. Development. 1998;125(7).
4. Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Hedgehog signalling in skin development and cancer. Vol. 15, Experimental Dermatology. 2006.
5. Bale AE. HEDGEHOG SIGNALING AND HUMAN DISEASE. Annual Review of Genomics and Human Genetics. 2002;3(1).
6. Ruiz i Altaba A, Palma V, Dahmane N. Hedgehog–Gli signaling and the growth of the brain. Nature Reviews Neuroscience. 2002;3(1).
7. Jeng KS, Chang CF, Lin SS. Sonic hedgehog signaling in organogenesis, tumors, and tumor microenvironments. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020.
8. Fujii K, Miyashita T. Gorlin syndrome (nevoid basal cell carcinoma syndrome): Update and literature review. Vol. 56, Pediatrics International. 2014.
9. Kappler R, Calzada-Wack J, Schnitzbauer U, Koleva M, Herwig A, Piontek G, et al. Molecular characterization of Patched-associated rhabdomyosarcoma. J Pathol. 2003;200:348–56.
10. Ustiyani V, Bolte C, Zhang Y, Han L, Xu Y, Yutzey KE, et al. FOXF1 transcription factor promotes lung morphogenesis by inducing cellular proliferation in fetal lung mesenchyme. Developmental Biology. 2018;443(1).
11. Mahlapuu M, Enerbäck S, Carlsson P. Haploinsufficiency of the forkhead gene Foxf1, a target for sonic hedgehog signaling, causes lung and foregut malformations. Development. 2001;128(12).
12. Kalinichenko V v., Gusarova GA, Shin B, Costa RH. The forkhead box F1 transcription factor is expressed in brain and head mesenchyme during mouse embryonic development. Gene Expression Patterns. 2003;3(2).
13. Roa I, Meruane M. Digestive system development. International Journal of Morphology. 2012;30(4).
14. Kalinichenko V v, Zhou Y, Shin B, Stolz DB, Watkins SC, Whitsett JA, et al. Wild-type levels of the mouse Forkhead Box f1 gene are essential for lung repair. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol [Internet]. 2002;282:1253–65. Available from: www.ajplung.org

15. Kalinichenko V v., Lim L, Clark J, Whitsett JA, Rausa FM, Costa RH. Defects in pulmonary vasculature and perinatal lung hemorrhage in mice heterozygous null for the Forkhead Box f1 transcription factor. *Developmental Biology*. 2001 Jul 15;235(2):489–506.
16. Peterson RS, Lim L, Ye H, Zhou H, Overdier DG, Costa RH. The winged helix transcriptional activator HFH-8 is expressed in the mesoderm of the primitive streak stage of mouse embryos and its cellular derivatives. *Mechanisms of Development*. 1997;69(1–2).
17. Flood HM, Bolte C, Dasgupta N, Sharma A, Zhang Y, Gandhi CR, et al. The Forkhead box F1 transcription factor inhibits collagen deposition and accumulation of myofibroblasts during liver fibrosis. *Biology Open*. 2019;8(2).
18. Kalinichenko V v., Bhattacharyya D, Zhou Y, Gusarova GA, Kim W, Shin B, et al. Foxf1 +/- mice exhibit defective stellate cell activation and abnormal liver regeneration following CCl4 injury. *Hepatology*. 2003;37(1).
19. Kappler R, Bauer R, Calzada-Wack J, Rosemann M, Hemmerlein B, Hahn H. Profiling the molecular difference between Patched- and p53-dependent rhabdomyosarcoma. *Oncogene*. 2004;23(54).
20. Frieden IJ, Haggstrom AN, Drolet BA, Mancini AJ, Friedlander SF, Boon L, et al. Infantile hemangiomas: Current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas. In: *Pediatric Dermatology*. 2005.
21. Kilcline C, Frieden IJ. Infantile hemangiomas: How common are they? A systematic review of the medical literature. Vol. 25, *Pediatric Dermatology*. 2008.
22. Anderson KR, Schoch JJ, Lohse CM, Hand JL, Davis DM, Tollefson MM. Increasing incidence of infantile hemangiomas (IH) over the past 35 years: Correlation with decreasing gestational age at birth and birth weight. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2016;74(1).
23. Kanada KN, Merin MR, Munden A, Friedlander SF. A prospective study of cutaneous findings in newborns in the United States: Correlation with race, ethnicity, and gestational status using updated classification and nomenclature. *Journal of Pediatrics*. 2012;161(2).
24. Darrow DH, Greene AK, Mancini AJ, Nopper AJ, Cohen BA, Antaya RJ, et al. Diagnosis and management of infantile hemangioma: Executive summary. *Pediatrics*. 2015;136(4).
25. Mulliken JBMD, Glowacki J. A Classification Based on Endothelial Characteristics. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1982;69(3):412–20.
26. Takahashi K, Mulliken JB, Kozakewich HPW, Rogers RA, Folkman J, Ezekowitz RAB. Cellular markers that distinguish the phases of hemangioma during infancy and childhood. *Journal of Clinical Investigation*. 1994;93(6).
27. Greenberger S, Bischoff J. Pathogenesis of infantile haemangioma. Vol. 169, *British Journal of Dermatology*. 2013.

28. Boye E, Jinnin M, Olsen BR. Infantile hemangioma: Challenges, new insights, and therapeutic promise. Vol. 20, *Journal of Craniofacial Surgery*. 2009.
29. Krowchuk DP, Frieden IJ, Mancini AJ, Darrow DH, Blei F, Greene AK, et al. Clinical practice guideline for the management of infantile hemangiomas. *Pediatrics*. 2019;143(1).
30. Harter N, Mancini AJ. Diagnosis and Management of Infantile Hemangiomas in the Neonate. Vol. 66, *Pediatric Clinics of North America*. 2019.
31. Laken PA, Forsythe PL. Infantile hemangiomas: Pathogenesis and review of propranolol use. *Advances in Neonatal Care*. 2016;16(2).
32. Léauté-Labrèze C, Hoeger P, Mazereeuw-Hautier J, Guibaud L, Baselga E, Posiunas G, et al. A randomized, controlled trial of oral propranolol in infantile hemangioma. *New England Journal of Medicine*. 2014 Feb 19;372(8):735–46.
33. Stiles JM, Rowntree RK, Amaya C, Diaz D, Kokta V, Mitchell DC, et al. Gene expression analysis reveals marked differences in the transcriptome of infantile hemangioma endothelial cells compared to normal dermal microvascular endothelial cells Stiles et al. Gene expression analysis reveals marked differences in the transcriptome of infantile hemangioma endothelial cells compared to normal dermal microvascular endothelial cells [Internet]. Vol. 5, *Vascular Cell*. 2013. Available from: <http://www.vascularcell.com/content/5/1/6>
34. Barnés CM, Christison-Lagay EA, Folkman J. The placenta theory and the origin of infantile hemangioma. Vol. 5, *Lymphatic Research and Biology*. 2007.
35. Boscolo E, Bischoff J. Vasculogenesis in infantile hemangioma. *Angiogenesis*. 2009;12(2).
36. Yu Y, Flint AF, Mulliken JB, Wu JK, Bischoff J. Endothelial progenitor cells in infantile hemangioma. *Blood*. 2004;103(4).
37. Bischoff J. Progenitor cells in infantile hemangioma. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2009;20(SUPPL. 1).
38. Hagen R, Ghareeb E, Jalali O, Zinn Z. Infantile hemangiomas: What have we learned from propranolol? Vol. 30, *Current Opinion in Pediatrics*. 2018.
39. Rotter A, de Oliveira ZNP. Infantile hemangioma: pathogenesis and mechanisms of action of propranolol. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2017;15(12).
40. Huang L, Nakayama H, Klagsbrun M, Mulliken JB, Bischoff J. Glucose transporter 1-positive endothelial cells in infantile hemangioma exhibit features of facultative stem cells. *Stem Cells*. 2015;33(1).
41. Briscoe J, Théron PP. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease. Vol. 14, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2013.
42. Vokes SA, Yatskievych TA, Heimark RL, McMahon J, McMahon AP, Antin PB, et al. Hedgehog signaling is essential for endothelial tube formation during vasculogenesis. *Development*. 2004;131(17).

43. Christison-Lagay ER, Burrows PE, Alomari A, Dubois J, Kozakewich HP, Lane TS, et al. Hepatic hemangiomas: subtype classification and development of a clinical practice algorithm and registry. *Journal of Pediatric Surgery*. 2007;42(1).
44. Rialon KL, Murillo R, Fevurly RD, Kulungowski AM, Christison-Lagay ER, Zurakowski D, et al. Risk factors for mortality in patients with multifocal and diffuse hepatic hemangiomas. In: *Journal of Pediatric Surgery*. 2015.
45. Erdogan D, Busch ORC, van Delden OM, Bennink RJ, ten Kate FJW, Gouma DJ, et al. Management of liver hemangiomas according to size and symptoms. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2007;22(11).
46. Iacobas I, Phung TL, Adams DM, Trenor CC, Blei F, Fishman DS, et al. Guidance Document for Hepatic Hemangioma (Infantile and Congenital) Evaluation and Monitoring. *Journal of Pediatrics*. 2018;203.
47. Requena L, Kutzner H. Hemangioendothelioma. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2013;30(1).
48. Dehner LP, Ishak KG. Vascular tumors of the liver in infants and children. A study of 30 cases and review of the literature. *Archives of pathology*. 1971;92(2).
49. Mo JQ, Dimashkieh HH, Bove KE. GLUT1 Endothelial Reactivity Distinguishes Hepatic Infantile Hemangioma from Congenital Hepatic Vascular Malformation with Associated Capillary Proliferation. *Human Pathology*. 2004;35(2).
50. Wassef M, Blei F, Adams D, Alomari A, Baselga E, Berenstein A, et al. Vascular anomalies classification: Recommendations from the international society for the study of vascular anomalies. *Pediatrics*. 2015;136(1).
51. Iacobas I, Phung TL, Adams DM, Trenor CC, Blei F, Fishman DS, et al. Guidance Document for Hepatic Hemangioma (Infantile and Congenital) Evaluation and Monitoring. *Journal of Pediatrics*. 2018;203.
52. Frieden IJ, Haggstrom AN, Drolet BA, Mancini AJ, Friedlander SF, Boon L, et al. Infantile hemangiomas: Current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas. In: *Pediatric Dermatology*. 2005.
53. Moon SB, Kwon HJ, Park KW, Yun WJ, Jung SE. Clinical experience with infantile hepatic hemangioendothelioma. *World Journal of Surgery*. 2009;33(3).
54. Hsi Dickie B, Fishman SJ, Azizkhan RG. Hepatic vascular tumors. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2014;23(4).
55. Grassia KL, Peterman CM, Iacobas I, Margolin JF, Bien E, Padhye B, et al. Clinical case series of pediatric hepatic angiosarcoma. *Pediatric Blood and Cancer*. 2017;64(11).
56. Zhang XM, Tong Y, Li Q, He Q. Diffused hepatic angiosarcoma with Kasabach-Merritt syndrome-case report and literature review. Vol. 20, *BMC Gastroenterology*. 2020.
57. Liang MG, Frieden IJ. Infantile and congenital hemangiomas. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2014;23(4).

58. Lekwuttikarn R, Josephs S, Teng JM. Successful Medical Management of Life-threatening Hepatic Hemangioma in Neonates. *Pediatrics*. 2019;144(4).
59. Yang K, Peng S, Chen L, Chen S, Ji Y. Efficacy of propranolol treatment in infantile hepatic haemangioma. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2019;55(10).
60. Board PPTe. Childhood Vascular Tumors Treatment (PDQ®). PDQ Cancer Information Summaries. 2016;
61. Foley LS, Kulungowski AM. *Vascular Anomalies in Pediatrics*. Vol. 62, *Advances in Pediatrics*. 2015.
62. Dehner LP. The challenges of vasoformative tumors of the liver in children. Vol. 7, *Pediatric and Developmental Pathology*. 2004.
63. Mac-Moune Lai F, To KF, Choi PCL, Leung PC, Kumta SM, Yuen PPM, et al. Kaposiform hemangioendothelioma: Five patients with cutaneous lesion and long follow-up. *Modern Pathology*. 2001;14(11).
64. Garzon MC, Enjolras O, Frieden IJ. Vascular tumors and vascular malformations: Evidence for an association. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2000;42(2 I).
65. Liu XH, Li JY, Qu XH, Yan WL, Zhang L, Yang C, et al. Treatment of kaposiform hemangioendothelioma and tufted angioma. *International Journal of Cancer*. 2016;139(7).
66. Zukerberg LR, Nickoloff BJ, Weiss SW. Kaposiform hemangioendothelioma of infancy and childhood: An aggressive neoplasm associated with Kasabach-Merritt syndrome and lymphangiomatosis. *American Journal of Surgical Pathology*. 1993;17(4).
67. Enjolras O, Soupre V, Picard A. Uncommon Benign Infantile Vascular Tumors. Vol. 24, *Advances in Dermatology*. 2008.
68. Wendling-Keim DS, Wanie L, von Schweinitz D, Grantzow R, Kappler R. Transcriptional activation of Hedgehog pathway components in aggressive haemangioma. *Experimental Dermatology*. 2017;26(10).
69. Pan A, Chang L, Nguyen A, James AW. A review of hedgehog signaling in cranial bone development. *Frontiers in Physiology*. 2013;4 APR.
70. BINNS W, JAMES LF, SHUPE JL, EVERETT G. A CONGENITAL CYCLOPIAN-TYPE MALFORMATION IN LAMBS INDUCED BY MATERNAL INGESTION OF A RANGE PLANT, VERATRUM CALIFORNICUM. *American journal of veterinary research*. 1963;24.
71. Odent S, Attié-Bitach T, Blayau M, Mathieu M, Augé J, Delezoïde AL, et al. Expression of the Sonic hedgehog (SHH) gene during early human development and phenotypic expression of new mutations causing holoprosencephaly. *Human Molecular Genetics*. 1999;8(9).
72. Johnson D, Wilkie AOM. Craniosynostosis. *European Journal of Human Genetics*. 2011 Apr;19(4):369–76.
73. Governale LS. Craniosynostosis. Vol. 53, *Pediatric Neurology*. 2015.

74. Kolar JC. An epidemiological study of nonsyndromal craniosynostoses. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2011;22(1).
75. Dempsey RF, Monson LA, Maricevich RS, Truong TA, Olarunnipa S, Lam SK, et al. Nonsyndromic Craniosynostosis. Vol. 46, *Clinics in Plastic Surgery*. 2019.
76. Thomas GPL, Johnson D, Byren JC, Judge AD, Jayamohan J, Magdum SA, et al. The incidence of raised intracranial pressure in nonsyndromic sagittal craniosynostosis following primary surgery. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*. 2015;15(4).
77. Florisson JMG, van Veelen MLC, Bannink N, van Adrichem LNA, van der Meulen JJNM, Bartels MC, et al. Papilledema in isolated single-suture craniosynostosis: Prevalence and predictive factors. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2010;21(1).
78. Stavrou P, Sgouros S, Willshaw HE, Goldin JH, Hockley AD, Wake MJC. Visual failure caused by raised intracranial pressure in craniosynostosis. *Child's Nervous System*. 1997;13(2).
79. Hubli EH. A functional aesthetic approach to correcting the sequelae of sagittal synostosis. *Seminars in Plastic Surgery*. 2014;28(3).
80. Prevost R, Keribin P, Batut C, Guichard B, Ambroise B, Bohra A, et al. Management of non-syndromic craniosynostoses in France in 2015: A national survey. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2019;47(4).
81. Binkiewicz-Glińska A, Mianowska A, Sokołów M, Reńska A, Ruckeman-Dziurdzińska K, Bakula S, et al. Early diagnosis and treatment of children with skull deformations. The challenge of modern medicine. Vol. 20, *Developmental period medicine*. 2016.
82. Mertens C, Wessel E, Berger M, Ristow O, Hoffmann J, Kansy K, et al. The value of three-dimensional photogrammetry in isolated sagittal synostosis: Impact of age and surgical technique on intracranial volume and cephalic index—a retrospective cohort study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017 Dec 1;45(12):2010–6.
83. Flannery AM, Tamber MS, Mazzola C, Klimo P, Baird LC, Tyagi R, et al. Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guidelines for the Management of Patients with Positional Plagiocephaly: Executive Summary. Vol. 79, *Neurosurgery*. 2016.
84. American Academy of Pediatrics. Positioning and SIDS. AAP task force on infant positioning and SIDS. *Pediatrics*. 1992;89(6).
85. van Vlimmeren LA, Engelbert RH, Pelsma M, Groenewoud HM, Boere-Boonekamp MM, der Sanden MWN van. The course of skull deformation from birth to 5 years of age: a prospective cohort study. *European Journal of Pediatrics*. 2017;176(1).
86. de Bock F, Braun V, Renz-Polster H. Deformational plagiocephaly in normal infants: A systematic review of causes and hypotheses. *Archives of Disease in Childhood*. 2017;102(6).
87. Braun TL, Hollier LH. Discussion: Head orthosis therapy in positional plagiocephaly: Influence of age and severity of asymmetry on effect and duration of therapy. Vol. 140, *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2017.

88. Tamber MS, Nikas D, Beier A, Baird LC, Bauer DF, Durham S, et al. Guidelines: Congress of Neurological Surgeons Systematic Review and Evidence-Based Guideline on the Role of Cranial Molding Orthosis (Helmet) Therapy for Patients with Positional Plagiocephaly. Vol. 79, Neurosurgery. 2016.
89. van Wijk RM, van Vlimmeren LA, Groothuis-Oudshoorn CGM, van der Ploeg CPB, Jzerman MJ, Boere-Boonekamp MM. Helmet therapy in infants with positional skull deformation: Randomised controlled trial. *BMJ (Online)*. 2014;348.

5. Verzeichnis eigener wissenschaftlicher Publikationen

a. Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor

1. Trauma Scores and Their Prognostic Value for the Outcome Following Pediatric Polytrauma. *Front. Pediatr.* 9:721585. Doi: 10.3389/fped.2021.721585
Wendling-Keim DS, Hefele A, Muensterer O, Lehner M. IF=3.184
2. Prophylactic Drain Placement in Childhood Perforated Appendicitis: Does Spillage Matter? *Front Pediatr.* 2020 Oct 9;8:588109. doi: 10.3389/fped.2020.588109. PMID: 33163468; PMCID: PMC7581796.
Schmidt YM, **Wendling-Keim D**, von Schweinitz D, Hubertus J, Berger M. IF=2.634
3. Timing of osteosynthesis of fractures in children changes the outcome. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2020 Aug 25. doi: 10.1007/s00068-020-01464-4. Epub ahead of print. PMID: 32844235.
Wendling-Keim DS, Binder M, Dietz HG, Lehner M. IF=2.139
4. Lateral Condyle Fracture of the Humerus in Children: Kirschner Wire or Screw Fixation? *Eur J Pediatr Surg.* 2020 Jul 28. doi: 10.1055/s-0040-1714656. Epub ahead of print. PMID: 32722825.
Wendling-Keim DS, Teschemacher S, Dietz H.-G. Dietz, Lehner M. IF=1.703
5. A new parameter for the management of positional plagiocephaly: the size of the anterior fontanelle matters. *Childs Nerv Syst* 2020; 36(2): 363-371.
Wendling-Keim DS, Macé Y, Lochbihler H, Dietz HG, Lehner M. IF=1.327
6. Osteoclastic craniectomy for scaphocephaly in infants results in physiological head shapes. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019 Dec;47(12):1891-1897.
Lehner M, Ferrari-von Klot F, Zundel S, **Wendling-Keim D**. IF=1.942
7. Activation of Hedgehog Signaling in Aggressive Hepatic Hemangioma in Newborns and Infants. *Anticancer Res.* 2019; 39(5): 2351-2360.
Wendling-Keim D, Vokuhl C, Walz C, Rieder L, Grantzow R, von Schweinitz D, Kappler R, Berger M. IF=1.935
8. Prognostic Factors for the Outcome of Supracondylar Humeral Fractures in Children. *Orthop Surg* 2019; 11(4): 690-697.
Wendling-Keim DS, Binder M, Dietz HG, Lehner M. IF=1.331
9. Transcriptional activation of Hedgehog pathway components in aggressive haemangioma. *Exp Dermatol.* 2017;26(10): 934-939.
Wendling-Keim DS, Wanie L, von Schweinitz D, Grantzow R, Kappler R. IF=2.608

10. Ambulatory or inpatient management of mild TBI in children: a post-concussion analysis. *Pediatr Surg Int.* 2017;33(2): 249-261.
Wendling-Keim DS, König A, Dietz HG, Lehner M. IF=1.476
11. Closed reduction and immobilization of displaced distal radial fractures. Method of choice for the treatment of children? *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2015;41(4): 421-8.
Wendling-Keim DS, Wieser B, Dietz HG. IF=0.472
12. Characteristic overexpression of the forkhead box transcription factor Foxf1 in Patched-associated tumors. *Int J Mol Med.* 2008 Dec;22(6):787-92.
Wendling DS, Lück C, von Schweinitz D, Kappler R. IF=1.880

b. Originalarbeiten als Koautor

1. Reduction of treatment time for children in the trauma room care: Impact of implementation of an interdisciplinary trauma room concept (iTRAP). *Anaesthesist.* 2018;67(12): 914-921.
Lehner M, Hoffmann F, Kammer B, Heinrich M, Falkenthal L, **Wendling-Keim D**, Kurz M. IF=0.904
2. On-site CAD templates reduce surgery time for complex craniostenosis repair in infants: a new method. *Childs Nerv Syst* 2020; 36(4): 793-801.
Lehner M, **Wendling-Keim D**, Kunz M, Deininger S, Zundel S, Peraud A, Mast G. IF=1.327
3. Clival fractures in children: a challenge in the trauma room setting! *Childs Nerv Syst.* 2020 Nov 27. doi: 10.1007/s00381-020-04963-2. Epub ahead of print. PMID: 33245407.
Fromm J, Meuwly E, **Wendling-Keim D**, Lehner M, Kammer B. IF=1.327

c. Übersichtsartikel / Reviews

1. Management of Traumatic Brain Injury in Childhood. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 11-2019; ISSN 0026-9298. DOI: 10.1007/s00112-019-00770-5.
M. Lehner, S. Deininger, **D. Wendling-Keim**. IF: 0.312
2. Das Schädel-Hirn-Trauma im Kindesalter. Ausgewählte Aspekte für den Notarzt, die Notfallpraxis und die Nothilfe. *Pädiatrische Praxis* 2021 (95): 578-587.
M. Lehner, **D. Wendling-Keim**, P. Esslinger.

d. Buch/Buchkapitel

1. Joppien, Maier, **Wendling** (2010). BASICS Experimentelle Doktorarbeit. Buch, Elsevier Verlag, ISBN-10: 3437426966.
2. **Wendling D.**, von Schweinitz D. (2009 und 2013) Maligne Lymphome. **In:** Kinderchirurgie. Viszerale und allgemeine Chirurgie des Kindesalters. von Schweinitz, Ure; erschienen im Springer Verlag, 2009; 2. Auflage 2013. ISBN-10: 3642297781

e. Sonstige Veröffentlichungen

1. Mild Traumatic Brain Injury in Children: Strategies to Reduce the in Hospital Observation Period. Open Access Journal of Surgery, Volume 4, Issue 2-May 2017; ISSN: 2476-1346.
M. Lehner, A. Koenig, B. Schuster, H.-G. Dietz and **D. Wendling-Keim.** IF: 0.103

6. Ausgewählte Originalarbeiten als Erst-, Letzt- und Coauthor

Wendling DS, Lück C, von Schweinitz D, Kappler R. Characteristic overexpression of the forkhead box transcription factor Foxf1 in Patched-associated tumors. *Int J Mol Med*. 2008 Dec;22(6):787-92. PMID: 19020777. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19020777/>

Wendling-Keim DS, Wanie L, von Schweinitz D, Grantzow R, Kappler R. Transcriptional activation of Hedgehog pathway components in aggressive haemangioma. *Exp Dermatol*. 2017 Oct;26(10):934-939. doi: 10.1111/exd.13346. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28370639. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28370639/>

Wendling-Keim D, Vokuhl C, Walz C, Rieder L, Grantzow R, VON Schweinitz D, Kappler R, Berger M. Activation of Hedgehog Signaling in Aggressive Hepatic Hemangioma in Newborns and Infants. *Anticancer Res*. 2019 May;39(5):2351-2360. doi: 10.21873/anticancer.13352. PMID: 31092427. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31092427/>

Lehner M, Ferrari-von Klot F, Zundel S, Wendling-Keim D. Osteoclastic craniectomy for scaphocephaly in infants results in physiological head shapes. *J Craniomaxillofac Surg*. 2019 Dec;47(12):1891-1897. doi: 10.1016/j.jcms.2019.10.006. Epub 2019 Nov 28. PMID: 31812312. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31812312/>

Wendling-Keim DS, Macé Y, Lochbihler H, Dietz HG, Lehner M. A new parameter for the management of positional plagiocephaly: the size of the anterior fontanelle matters. *Childs Nerv Syst*. 2020 Feb;36(2):363-371. doi: 10.1007/s00381-019-04215-y. Epub 2019 Jun 17. PMID: 31209640. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31209640/>

Lehner M, Wendling-Keim D, Kunz M, Deininger S, Zundel S, Peraud A, Mast G. On-site CAD templates reduce surgery time for complex craniostenosis repair in infants: a new method. *Childs Nerv Syst*. 2020 Apr;36(4):793-801. doi: 10.1007/s00381-019-04474-9. Epub 2020 Jan 3. PMID: 31900627. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31900627/>