



U.O. Attività Economiche e di Approvvigionamento  
ER/vm

DETERMINAZIONE N. **138** DEL **21 GEN. 2021**

OGGETTO: Esito della procedura negoziata per la fornitura di kit di reagenti SALSA MLPA per l'identificazione di delezioni/amplificazioni (diagnostici esclusivi) per la U.O. Genetica dei Tumori Rari, per il periodo 20.01.2021 – 15.12.2021. Importo complessivo contrattuale di Euro 9.820,00 esclusa IVA e di Euro 11.980,40 inclusa IVA al 22%, da imputarsi al C.E. 120.006.005.

L'anno duemilaventuno addì **21** del mese di **GEN**, presso la sede Amministrativa dell'IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, sito in Genova, largo Rosanna Benzi 10,

IL DIRETTORE

- Vista la deliberazione n. 1935 del 28.10.2020 con la quale sono state definite le competenze e le responsabilità degli Organi di Governo e di Gestione delle Unità Operative;
- Visto il D. Lgs 18 Aprile 2016, n. 50 di attuazione delle Direttive 2014/23/UE, 2014/24/UE e 2014/25/UE ed il successivo decreto correttivo D. Lgs. n. 56/2017;
- vista l'allegata nota prot. n. 46556 del 24.11.2020 con cui la U.O. Farmacia ha trasmesso il verbale n. 37/CAD dell'incontro tenutosi in data 13.11.2020, nel quale la Commissione appositamente costituita ha valutato la dichiarazione di esclusività, formulata dal Direttore della U.O. Genetica dei Tumori Rari, nonché dal Direttore del Dipartimento di afferenza, esprimendo parere favorevole alla fornitura di kit di reagenti SALSA MLPA della ditta Resnova S.r.l., per l'identificazione di delezioni/amplificazioni;
- considerato che in data 09.12.2020 è stato pubblicato sul sito istituzionale del Policlinico l'allegato avviso di consultazione preliminare finalizzato a verificare l'eventuale presenza sul mercato di prodotti equivalenti ai reagenti in argomento e che, al termine previsto del 28.12.2020, non è pervenuta alcuna manifestazione di interesse;
- dato atto, pertanto, che con nota prot. n. 12 del 02.01.2021 si è provveduto a richiedere offerta economica alla sopra citata ditta Resnova S.r.l., che, con nota di riscontro recepita in data 08.01.2021 con prot. n. 686, ha dato la propria disponibilità alla fornitura in argomento fino al 15.12.2021;
- precisato che l'iter procedurale per la fornitura di cui al presente provvedimento è conforme alle disposizioni di cui al Regolamento per l'acquisto di beni e/o servizi in regime di infungibilità/esclusività ex art. 63 comma 2 lett. b) D. Lgs. n. 50/2016, approvato con Deliberazione n. 349 del 27.02.2019;

- ritenuto pertanto di affidare alla ditta Resnova S.r.l. la fornitura di kit di reagenti SALSA MLPA per l'identificazione di delezioni/amplificazioni per la U.O. Genetica dei Tumori Rari, alle condizioni riportate nell'allegato "A", parte integrante e sostanziale del presente provvedimento, per il periodo 20.01.2021 – 15.12.2021, per l'importo complessivo contrattuale pari ad Euro 9.820,00 esclusa IVA e ad Euro 11.980,40 inclusa IVA al 22%, da imputarsi al C.E. 120.006.005 (diagnostici), autorizzazione n. 1214;

## DETERMINA

per le motivazioni espresse in premessa:

- 1) di affidare alla ditta Resnova S.r.l. la fornitura di kit di reagenti SALSA MLPA per l'identificazione di delezioni/amplificazioni per la U.O. Genetica dei Tumori Rari, alle condizioni riportate nell'allegato "A", parte integrante e sostanziale del presente provvedimento, per il periodo 20.01.2021 – 15.12.2021, per l'importo complessivo contrattuale pari ad Euro 9.820,00 esclusa IVA e ad Euro 11.980,40 inclusa IVA al 22%, da imputarsi al C.E. 120.006.005, autorizzazione n. 1214 del Bilancio 2021;
- 2) di assumere in prima istanza sub-autorizzazione pari ad euro 100,00 sul sopra citato Conto Economico, riservandosi l'integrazione della stessa fino all'importo determinato;
- 3) di inviare il presente provvedimento all'U.O. Affari Generali e Legali, Area Delibere, entro tre giorni dall'adozione per la pubblicazione all'Albo pretorio on line, per la conservazione legale e per quant'altro sia previsto dalla normativa vigente;
- 4) di dichiarare il presente provvedimento esecutivo dalla data di pubblicazione all'Albo Pretorio on line.

**ASSUNZIONE SUB-AUTORIZZAZIONE**

C.E. 120.006.005 per Euro 100,00 1214/246

VM

IL RESPONSABILE DEL PROCEDIMENTO  
(Elisabetta Rossi)

IL DIRETTORE U.O.  
(Dott.ssa Stefania Rizzuto)

PUBBLICATA ALL'ALBO  
ED ESECUTIVA

DAL GIORNO **25 GEN. 2021**



OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO  
Sistema Sanitario Regione Liguria  
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

**U.O.C. Farmacia**  
**Direttore f.f. Dott.ssa S. Beltramini**

Prot.

Genova Il,

Protocollo Generale n. 0046556/20 del 24/11/2020

**Al Direttore**  
**U.O. Attività Economiche e di**  
**Approvvigionamento**  
**Dott.ssa S. Rizzuto**

e.p.c. **Al Direttore DIPLA**  
**Prof. R. Fiocca**

**Al Direttore**  
**U.O. Genetica dei tumori rari**  
**Prof.ssa P. Ghiorzo**

**OGGETTO: acquisizione di diagnostici CAD/37 "Kit Salsa MLPA (Multiplex Ligation Probe-Dependent Amplification) per l'identificazione di delezioni/amplificazioni. I kit sono soggetti a brevetti e sono stati creati per singole patologie. Tutti i prodotti sono CE-IVD" - ditte Resnova**

Si trasmette il Verbale n. 37/CAD Diagnostici, dell'incontro tenutosi in data 13.11.2020, relativo all'acquisizione dei prodotti in oggetto.

Distinti saluti.

*Il Direttore f.f.*  
*Dott.ssa S. Beltramini*

ALLEGATO ALLA DETERMINAZIONE N. 138 DEL 21 GEN. 2021  
COMPOSTO DA N. 20 PAGINE NUMERATE DA 1 A .....

Copia al Direttore U.O. Governo Clinico e Organizzazione Ospedaliera  
Copia U.O. Information & Communication Technologies (ICT)



OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO  
Sistema Sanitario Regione Liguria  
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico per l'Oncologia

### Verbale incontro N° 37

Dispositivi Medici -  Diagnostici

Data: 13/11/2020

Presso: RIUNIONE TEAMS

Ora inizio: 11:30

Ora termine: 12:30

PRESENTI	CDC-DIP	FIRMA
A.MORANDO	HOR	
S.BELTRAMINI	HFA	
M.BADO	HFA	
M.SADDEMI	HSI	

**Oggetto: valutazione Dichiarazioni di esclusività Dispositivi Medici**

KIT SALSA MLPA (MULTIPLEX LIGATION PROBE-DEPENDENT AMPLIFICATION) PER L'IDENTIFICAZIONE DI DELEZIONI/AMPLIFICAZIONI. I KIT SONO SOGGETTI A BREVETTI E SONO STATI CREATI PER SINGOLE PATOLOGIE. TUTTI I PRODOTTI ELENCATI SONO CE-IVD - *delto RESNOVA*

Centro di costo richiedente: U1NL UO GENETICA DEI TUMORI RARI

Si comunica che per la richiesta di acquisto con procedura di esclusività presentata è stato espresso parere favorevole.

Note:

la U.O. Gestione Approvvigionamenti effettuerà le indagini preliminari di mercato di sua competenza per verificare l'unicità del prodotto.



OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO  
Sistema Sanitario Regione Liguria  
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico per l'Oncologia

### Verbale incontro N° 37

Dispositivi Medici -  Diagnostici

Data: 13/11/2020

Presso: RIUNIONE TEAMS

Ora inizio: 11:30

Ora termine: 12:30

PRESENTI	CDC-DIP	FIRMA
A.MORANDO	HOR	
S.BELTRAMINI	HFA	
M.BADO	HFA	
M.SADDEMI	HSI	

**Oggetto: valutazione Dichiarazioni di esclusività Dispositivi Medici**

KIT SALSA MLPA (MULTIPLEX LIGATION PROBE-DEPENDENT AMPLIFICATION) PER L'IDENTIFICAZIONE DI DELEZIONI/AMPLIFICAZIONI. I KIT SONO SOGGETTI A BREVETTI E SONO STATI CREATI PER SINGOLE PATOLOGIE. TUTTI I PRODOTTI ELENCATI SONO CE-IVD - *ditto RESNOVA*

Centro di costo richiedente: U1NL UO GENETICA DEI TUMORI RARI

Si comunica che per la richiesta di acquisto con procedura di esclusività presentata è stato espresso parere favorevole.

Note:

la U.O. Gestione Approvvigionamenti effettuerà le indagini preliminari di mercato di sua competenza per verificare l'unicità del prodotto.



OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO  
Sistema Sanitario Regione Liguria  
*Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico per l'Oncologia*

## Verbale incontro N° 37

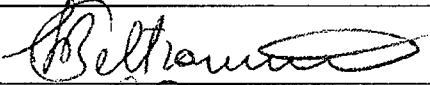

Dispositivi Medici -  Diagnostici

Data: 13/11/2020

Presso: RIUNIONE TEAMS

Ora inizio: 11:30

Ora termine: 12:30

PRESENTI	CDC-DIP	FIRMA
A.MORANDO	HOR	
S.BELTRAMINI	HFA	
M.BADO	HFA	
M.SADDEMI	HSI	

**Oggetto: valutazione Dichiarazioni di esclusività Dispositivi Medici**

KIT SALSA MLPA (MULTIPLEX LIGATION PROBE-DEPENDENT AMPLIFICATION) PER L'IDENTIFICAZIONE DI DELEZIONI/AMPLIFICAZIONI. I KIT SONO SOGGETTI A BREVETTI E SONO STATI CREATI PER SINGOLE PATOLOGIE. TUTTI I PRODOTTI ELENCATI SONO CE-IVD - *ditta RESNOVA*

Centro di costo richiedente: U1NL UO GENETICA DEI TUMORI RARI

Si comunica che per la richiesta di acquisto con procedura di esclusività presentata è stato espresso parere favorevole.

Note:

la U.O. Gestione Approvvigionamenti effettuerà le indagini preliminari di mercato di sua competenza per verificare l'unicità del prodotto.

U.O. GOVERNO CLINICO E ORGANIZZAZIONE OSPEDALIERA HOR	OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO	MODAZHOR_0050		
	MODULO AZIENDALE DICHIARAZIONE ESCLUSIVITA' DISPOSITIVO MEDICO IN VITRO	Rev. 2	Data 18/02/2019	Pag 1 di 5

U.O. GENETICA TUMORI RARI

CDC: UIN

**Ai sensi dell'art. 63 comma 2 lettera b del D.Lgs 50/2016  
Assumo personale responsabilità che il seguente prodotto:**

Descrizione: Kits SALSA MLPA (Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification), kit per l'identificazione di delezioni/amplificazioni. I kit sono soggetti a brevetti e sono stati creati per singole patologie. Tutti i prodotti elencati sono CE-IVD

Nome Commerciale:

- 1) SALSA MLPA EK1 reagent kit – 100 rxn
- 2) Multiple endocrine neoplasia (MEN) type I
- 3) Sindrome di Peutz Jeghers (STK11)
- 4) Juvenile polyposis syndrome (JPS)
- 5) Von Hippel-Lindau syndrome (VHL)
- 6) Paragangliomas-Pheochromocytoma syndrome, hereditary (PGL/PCC)
- 7) Sindromi Amartomatose PTEN correlate (S. Cowden; S. Bannayan-Riley-Ruvalcaba (BRRS), S.PTEN-related Proteus (PS), S. Proteus-like (PLS))

Codice Prodotto:

- 1) SALSA MLPA EK1 reagent kit – 100 rxn – FAM- Cod EK1-FAM
- 2) SALSA MLPA P244 AIP-MEN1-CDKN1B probemix – P244-100R
- 3) SALSA MLPA P101 STK11 probemix – P101-100R
- 4) SALSA MLPA P158 Juvenile polyposis syndrome (JPS) probemix – P158-50R
- 5) SALSA MLPA P016 VHL probemix – P016-050R
- 6) SALSA MLPA P226 SDH probemix P226-100R
- 7) SALSA MLPA P225-100R probemix P225-100R

Produttore / Rivenditore: MRC Holland/ Resnova

da acquisire presso la Ditta: Resnova S.r.l.

Redatto D. ICR 12/11/19	Controllato PAC/UC	Approvato Direz. U.O.
----------------------------	-----------------------	--------------------------





U.O. GOVERNO CLINICO E ORGANIZZAZIONE OSPEDALIERA HOR	OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO	MODAZHOR_0050		
	MODULO AZIENDALE	Rev. 2	Data 18/02/2019	Pag 3 di 5
DICHIARAZIONE ESCLUSIVITA' DISPOSITIVO MEDICO IN VITRO				

L'MLPA è l'unica tecnica che in una sola reazione permette di evidenziare la presenza di delezioni/amplificazioni nei geni di interesse per ogni singola patologia. La ditta ha brevettato tale metodica costruendo per tutti gli esoni dei geni interessati un'unica mix che ibridizzandosi con il DNA del paziente permette di valutarne il numero di copie (2 copie: DNA normale, 1 copia delezione, più copie amplificazione). Non esiste nessuna altra metodica in grado di ottenere lo stesso risultato in tempi approssimativamente di 24 ore, a costi relativamente ridotti.

dichiaro, sotto la mia responsabilità, che i prodotti / test / reagenti alternativi sono stati testati e non risultano idonei per le ragioni sotto indicate:

**NON ESISTONO PRODOTTI ALTERNATIVI**

☞ Allegare dichiarazione **di privativa industriale per destinazione d'uso**  
**Brevetto n.:** no 00200506.4  
firmata in originale dal rappresentante legale della ditta **non antecedente a 6 mesi.**

☞ Casistica a cui è dedicato il prodotto:  
Multiple endocrine neoplasia (MEN) type I  
Sindrome di Peutz Jeghers  
Juvenile polyposis syndrome (JPS)  
Von Hippel-Lindau syndrome  
Paragangliomas-Pheochromocytoma syndrome, hereditary (PGL/PCC)  
Sindromi Amartomatose PTEN correlate

☞ Indicare linee guida/ istruzione operativa riconosciuta da società scientifiche/ network nazionali o internazionali e allegare documentazione  
Si allega pubblicazione di una patologia presa ad esempio (S.Cowden)

2) **MATERIALE DI CONSUMO E/O REAGENTI E/O ACCESSORI LEGATI AD APPARECCHIATURE E ATTREZZATURE IN PROPRIETÀ** che garantiscano, in esclusiva, l'attendibilità dell'esito dell'esame o siano unici per compatibilità con l'attrezzatura (Art. 63, c. 2, lett. b del D. Lgs. 50/2016).

*Indicare le caratteristiche specifiche di compatibilità in modo dettagliato:*

---



---



---



---



---

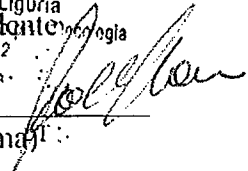
U.O. GOVERNO CLINICO E ORGANIZZAZIONE OSPEDALIERA HOR	OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO	MODAZHOR_0050		
	MODULO AZIENDALE	Rev. 2	Data 18/02/2019	Pag 4 di 5
	DICHIARAZIONE ESCLUSIVITA' DISPOSITIVO MEDICO IN VITRO			

Allegare dichiarazione della Ditta produttrice firmata in originale dal rappresentate legale della ditta non antecedente a 6 mesi

Dichiaro inoltre che il Dispositivo Medico in vitro sopra richiesto è usato esclusivamente a scopo diagnostico e/o terapeutico (COME DA DICHIARAZIONE ALL. I).

LE DICHIARAZIONI SONO RESE SEMPRE SOTTO LA PERSONALE RESPONSABILITA' PENALE, CIVILE, AMMINISTRATIVO-CONTABILE E DISCIPLINARE PREVISTA PER I DIPENDENTI DELLE AMMINISTRAZIONI PUBBLICHE (ART. 20 D.LGS. N. 29/93, COMMA 10).

Ospedale Policlinico San Martino  
 Sistema Sanitario Regionale Liguria  
 Ist. di Ricovero a Cura a Carattere Scientifico Oncologia  
 Largo Ruchina Benzi n° 10 - 16132  
 U.O. Genetica del Tumore  
 Direttore: Prof.ssa Paola  
 Sede: Largo R. Benzi n° 10  
 Tel. 010.53.72.11



Il Direttore di Dipartimento

I.R.C.C.S. - Ospedale Policlinico San Martino  
 Sistema Sanitario Regionale Liguria  
 U.O. Anatomia Patologica  
 (U.O.) Roberto Bigca  
 Dirigente Medico - G.M. Gr 15973  
 Direzione RRT 52516 4514E



Data. 13/11/2020

U.O. GOVERNO CLINICO E ORGANIZZAZIONE OSPEDALIERA HOR	OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO		MODAZHOR_0050		
	MODULO AZIENDALE		Rev. 2	Data 18/02/2019	Pag 5 di 5
DICHIAZIONE ESCLUSIVITA' DISPOSITIVO MEDICO IN VITRO					

DICHIAZIONE

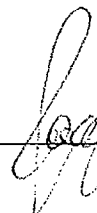
ALL. 1

Io sottoscritto Prof. Paola Ghiorzo in qualità di Direttore della U.O. Genetica Tumori Rari a cui  
afferisce il Laboratorio di Genetica dei Tumori Rari

## DICHIARO

**CHE I PRODOTTI INDICATI NELLA DICHIARAZIONE DI ESCLUSIVITA' (di cui al  
MODAZHOR\_0050 allegato) VENGONO UTILIZZATI, SOTTO LA MIA  
RESPONSABILITÀ, PER USO DIAGNOSTICO. NON ESISTONO SUL MERCATO  
PRODOTTI EQUIVALENTI CON INDICAZIONE SPECIFICA PER USO DIAGNOSTICO  
ED I PRODOTTI RICHIESTI GARANTISCONO L'AFFIDABILITÀ DEI TEST.**

In fede,

  
 Ospedale Policlinico San Martino  
 Sistema Sanitario Regione Liguria  
 Ist. di Ricerche e Cura a Carattere Scientifico per l'Oncologia  
 Largo Rosanna Benzi n° 10 - 16132 Genova  
 U.O. Genetica dei Tumori Rari  
 Timbro e firma leggibile: Ghiorzo  
 Sede: IST Sud

Data. \_\_\_\_\_

Redatto U.O. GEN. U.O. MRR	Controllato PAQ U.O.	Approvato Direzione U.O.
-------------------------------	-------------------------	-----------------------------



to whom it may concern:

J.P. Schouten, as director of MRC-Holland B.V. with legal address in Willem Schoutenstraat 1, 1057DL Amsterdam, the Netherlands and Chamber of Commerce nr. 34204804 (fiscal V.A.T. identification number NL813037761B01) hereby

**DICHIARA**

That MRC-Holland B.V. is the sole company worldwide that produces MLPA kits and RESNOVA S.r.l., with commercial address in Via Cadore, 14 - 00045 GENZANO di Roma RM - Italy, is the sole authorized exclusive distributor of such kits in the Italian territory.

*A chi di interesse:*

*Con la presente, il dr. J.P. Schouten, nella propria qualità di Direttore della MRC-Holland BV, con Sede legale in Willem Schoutenstraat 1 1057DL ad Amsterdam (Olanda), iscritta alla Camera di Commercio N° 34204804 e Partita IVA n° NL813037761B01, qui di seguito DICHIARA che la MRC-Holland B.V. è la sola Società a livello mondiale produttrice dei kits MLPA e che la Società RESNOVA S.r.l., avente Sede in Via Cadore, 14 - 00045 GENZANO di Roma RM, è il solo distributore esclusivo autorizzato alla vendita di tali kits in Italia.*

*Amsterdam, 5 October 2020*

Dr. J.P. Schouten

Director, MRC-Holland

MRC-Holland b.v. • Willem Schoutenstraat 1 • 1057 DL Amsterdam • The Netherlands  
Phone: +31 88 8657200 • Fax: +31 88 8657201 • E-mail: info@mlpa.com • Web: www.mlpa.com VAT: NL813 037  
761 B01 • Trade register Amsterdam: 34204804

Bank: ABN AMRO Amsterdam • IBAN: NL56ABNA 0418 9650 56 • BIC/Swift: ABNANL2A

A chi di interesse

Genzano di Roma, 5 Ottobre 2020

DICHIARAZIONE

La sottoscritta Società RESNOVA S.r.l., con Sede Centrale ed Amministrativa in Via  
Caciore, 14 a Genzano di Roma RM,

**DICHIARA**

La società **MRC-Holland B.V.** con sede legale in Hudsonstraat 68hs 1057SN ad  
Amsterdam (NL) è produttrice dei kits **MLPA** (Multiplex Ligation-dependent Probe  
Amplification, sviluppati interamente nei propri Laboratori e coperti da numerosi  
brevetti ed è la sola Azienda a livello mondiale a produrre tali kit e

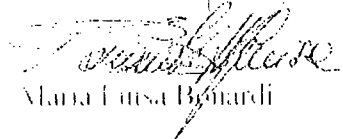
- b) che la Società **RESNOVA S.r.l.** è la distributrice diretta unica ed esclusiva per l'Italia  
dei prodotti "**MLPA**" e che non esiste, al momento, nessun rivenditore a livello locale  
o nazionale da noi autorizzato per la rivendita dei medesimi prodotti.

Si dichiara inoltre che, sulla base delle nostre conoscenze, non esistono disponibili in  
commercio, allo stato attuale, tecniche similari.

In fede,

**RESNOVA S.r.l.**

Amministratore Delegato



Maria Luisa Bernardi

RESNOVA S.r.l.

Sede Centrale ed Amministrativa: Via Caciore, 14 - 00045 GENZANO di Roma - RM - Italy - Tel.: 06 93955058 - Fax: 06 93955059  
Sito WEB: [www.resnovaweb.com](http://www.resnovaweb.com) Email: [resnova@resnovaweb.it](mailto:resnova@resnovaweb.it)



# An unusual case of Cowden syndrome associated with ganglioneuromatous polyposis

Luca F. Estrova<sup>1\*</sup>, Josua Pahlke<sup>1</sup>, Andreas Rump<sup>1</sup>, Daniel Aust<sup>1</sup>, Klara Garzardii<sup>1</sup>,  
Christoph Hübner<sup>1</sup> and Frank Meyer<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Ganglioneuromatous polyposis (GP) is a rare disorder characterized by presence of epithelial hamartomas, ganglioneuromas, and/or ganglioneuromatous polyps, combined with multiple lipomas, café-au-lait spots, and macrocephaly. The risk for malignant transformation of ganglioneuromatous polyps into colorectal cancer has been only very seldom reported.

**Methods and results:** We report the case of a 60-year-old male patient with adenocarcinoma, adenomas and lipomas of the colon and multiple gastroduodenal lesions (combined with generalized lipomatosis and macrocephaly). Based on the initial endoscopic and histological findings, a restorative proctocolectomy was performed, which was followed by the patient's clinical evolution to ganglioneuromatous polyposis. The histological examination of the polyps revealed the presence of the ganglioneuromatous lesions, which were followed for the next 10 years. We describe aspects of the clinical manifestations, and the clinical approach of this disease, emphasizing the importance of early cancer screening and RFLP for the analysis of 77.7 kbpally polymorphic microsatellite markers at presentation in exon 2 (NG\_001314.4) for the detection of a pathogenic mutation. A patient should be considered as a possible case of GP, confirming an unusual presentation of Cowden syndrome with colorectal cancer.

**Conclusions:** Colorectal cancer should be considered in cases of GP with restorative resection and careful surveillance, and molecular diagnostics. Because GP may represent a premalignant condition, a careful clinical and endoscopic procedure should be considered. Based on our experience, we recommend early diagnosis by means of RFLP rather than classical family screening for genetic diagnostics, especially if various

**Keywords:** Ganglioneuromatous polyposis, Colon cancer, Cowden syndrome, RFLP, Screening, Mutation

**Background**  
Ganglioneuromatous polyposis (GP) is a very rare disorder, and it may be associated with various clinical manifestations and syndromes such as Cowden syndrome, MEN II (and NF) [1–4]. The risk for malignant transformation of ganglioneuromas is unknown, and the

combination of GP with colon cancer has been only seldom reported.

We report the case of a patient with GP, adenocarcinoma, adenomas and lipomas of the colon, multiple gastroduodenal lesions as well as generalised lipomatosis and macrocephaly, which was investigated through extensive clinical and molecular diagnostics, reporting the findings and reviewing the current literature.

## Case report

### Personal and family history

A 60-year-old male caucasian patient was referred to the Outpatient Clinic for Hereditary Gastrointestinal



### Open Access

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

Tumors at the University Cancer Center (UCC) Dresden often being diagnosed with polyposis coli. There was no personal history of malignancies, yet at the age of 33 a thyroid resection because of struma nodosa with an incidental finding of a follicular adenoma was performed. Retroactively, the patient acknowledged having observed lipomas of the subcutaneous tissue at the age of 20. A significant comorbidity with hypertension, ischemic heart disease (myocardial infarction) and coronary stents one year previously, tachyarrhythmia and hyperlipoproteinemia was reported.

The study brother died at age 48 due to an anaplastic T-cell lymphoma and his daughter died due to a lymphoma at age 30 (Fig. 1). No further family members including his parents were reported as suffering from malignant diseases.

**Preoperative findings**

*Physical/dermatological examination*

The physical examination revealed multiple soft, painless, subcutaneous nodules on the torso and limbs, which had progressively developed over the past decades. There were multiple lipomas of various size (the largest measuring approximately 6 x 1 cm), on the torso, limbs and on the basal joint of the left thumb (Fig. 2a–c). In addition, a solid, subcutaneous tumor (2.5 x 2.0 cm in size) was palpable at the lower leg (Fig. 3). Acral keratosis or facial papules such as trichilemmomas as well as papillomatous lesions were typical manifestations of patients with a Cowden syndrome, but were not observed. Apart from a mild

lingua plicata and penile lentiginosis with irregular pigmented macules affecting the penile glans, no other mucosal abnormalities, particularly no papillomatosis of oral mucosa were seen. There was a mild gynecomastia. Furthermore, the examination of the skin revealed sporadic verrucae seborrhoicae, melanocytic nevi and sporadic red-colored, flat papules on the torso in terms of senile hemangiomas. In addition, a macrocephaly (occipital frontal circumference (OFCC) 64 cm (5 cm +97.P)) was measured.

**Endoscopy**

A complete colonoscopy performed by the referring physician revealed a macroscopically malignant tumor of the descending colon near the splenic flexure, which in the histological examination showed a high-grade intraepithelial dysplasia as well as numerous polyps in the entire colon and rectum, later confirmed by biopsies as hyperplastic polyps and dysplastic adenomas (Fig. 4a–c).

Furthermore, the upper-GI endoscopy revealed more than 60 gastric and about 25 duodenal polypoid lesions (Fig. 5). Histological examination of the gastric lesions had revealed distinctly regenerative foveolar hyperplasia.

**Radiological and nuclear imaging**

The abdominal ultrasonography detected small ambiguous hepatic lesions which were suggestive of liver metastases and haemangiomas, which were also observed in the abdominal CT and MRI scans. No pathologic findings in

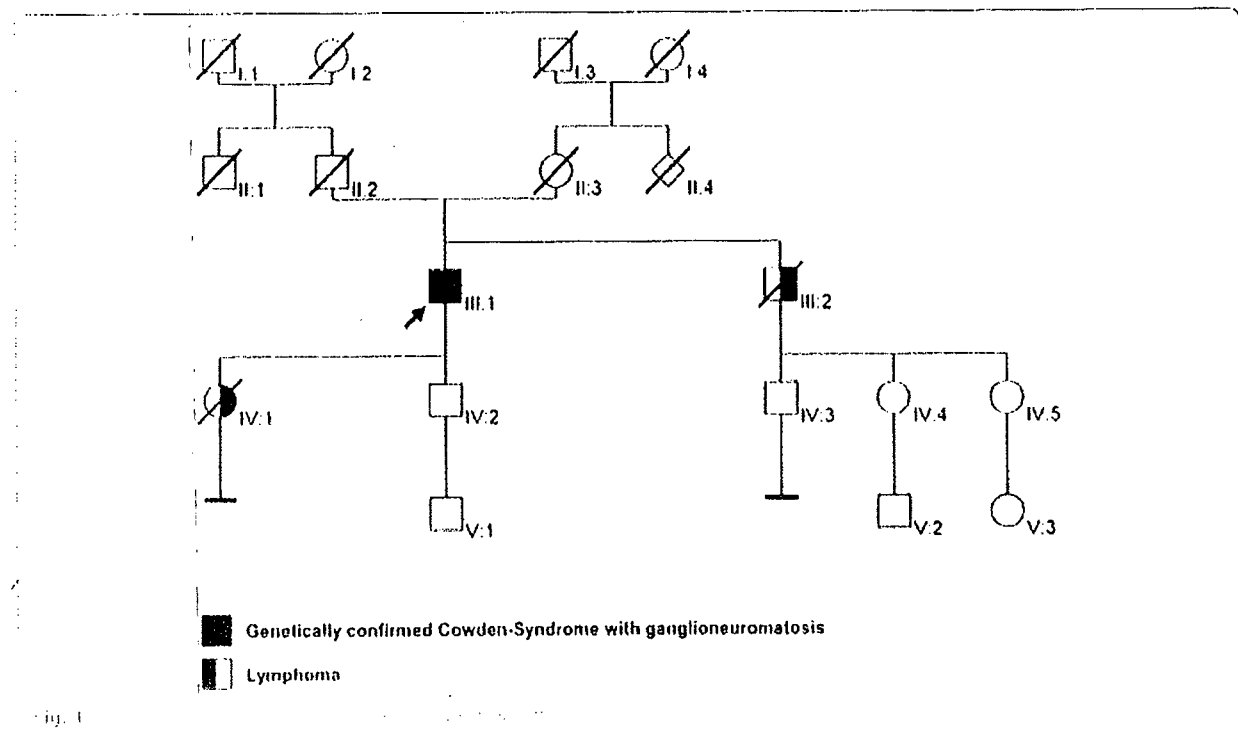
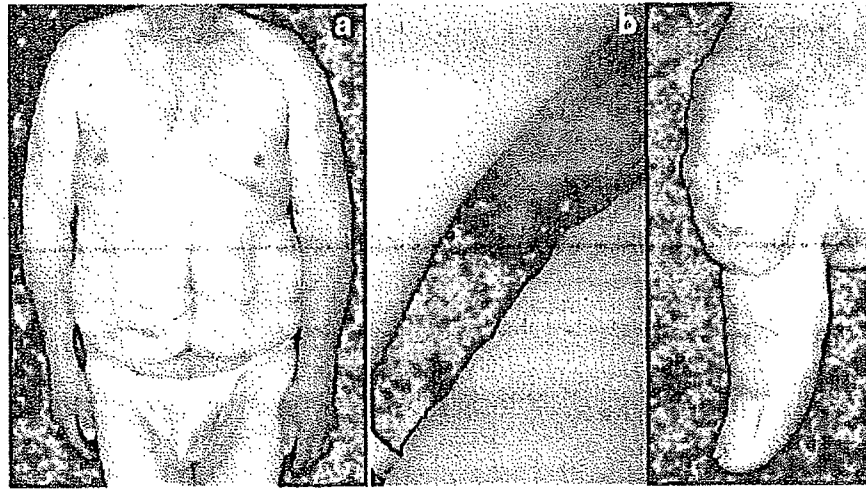


Fig. 1



**Fig. 2** PET-CT scan showing a focal accumulation of radio-nucleotide in the left-sided upper abdomen (a), paraaortic enhancement corresponding to the left lobe of the thyroid gland (b), and no evidence of any metastases of the colonic cancer (c)

other organs were seen. F-FDG PET-CT scan revealed a focal accumulation of radio-nucleotide in the left-sided upper abdomen, corresponding to the colonic tumor of the splenic flexure, and a paraaortic enhancement corresponding to the left lobe of the thyroid gland; no evidence of any metastases of the colonic cancer was found (images not shown).

**Surgical treatment**

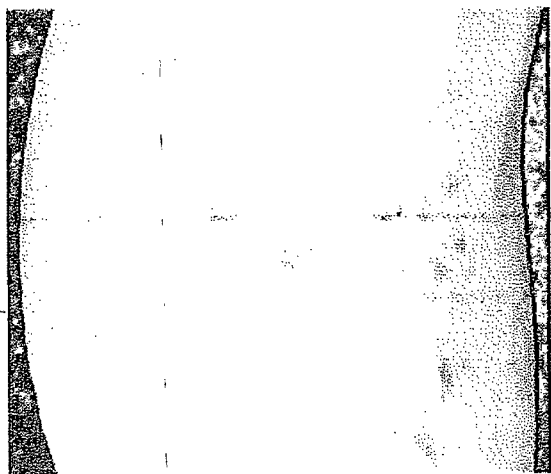
With the work diagnosis of an attenuated adenomatous polyposis coli or similarly atypical polyposis syndrome with a colon carcinoma in a 60-year old male, we recommended a restorative proctocolectomy, which was declined by the patient. Consequently, we opted for a total colectomy and lymphadenectomy (according to oncologic guidelines) with terminal ileostomy (Hartmann’s

procedure) as the first step of the treatment. The final decision concerning further procedures shall be made depending on the postoperative tumor staging of the colon carcinoma and the clinical course of the disease. The patient tolerated the procedure rather well, and the suspicion of liver metastases could not be confirmed intraoperatively.

**Histopathology and immunohistochemical examination**

Gross examination of the colectomy specimen revealed a 91 cm segment of colon with 3 cm of terminal ileum, the ileocecal valve and the appendix included. Throughout the colon (on the mucosa), there were more than 50 rounded-to-sessile polyps ranging from 0.3 to 0.5 cm in diameter. Two polyps in the ascending colon measured 1.5 cm. In addition, there was a flat lesion measuring 2.3 x 2.7 cm located in the splenic flexure, which on cross section had a whitish appearance.

Histologic examination of the tumor revealed a moderately differentiated adenocarcinoma arising from a tubular adenoma, which infiltrated the lamina muscularis propria without invasion of the pericolic adipose tissue (Fig. 6a). The examination of 26 mesocolic lymph nodes revealed no lymph node metastases, thus the stage defined for the tumor was pT2 N0 (0/26) M0 L0 V0 G2 R0. Histologic examination of the polyps revealed a large number of ganglions and spindle cells proliferating between glands, replacing the lamina propria. Immunohistochemical staining for S-100 protein was performed and showed strong reactivity in the spindle cell component, confirming the diagnosis of GP (Fig. 7). Additionally, there were two submucosal lipomas in the ascending colon and five tubular adenomas with low-grade dysplasia (Fig. 6b). The intestinal ganglioneuromas were confined to the mucosa. There were more than 50



**Fig. 3**



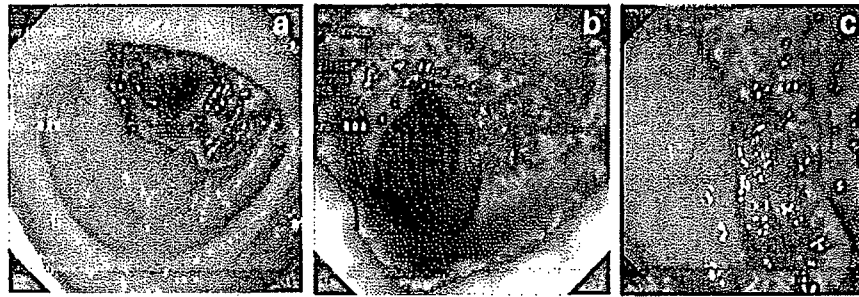


Fig. 4 Histological images of the polypoid lesion. a: polypoid lesion, b: adenoma, c: adenocarcinoma

sessile polypoid lesions, suggesting the diagnosis of ganglioneuromatous polyposis.

**Further diagnostics, clinical course and follow-up**

As a result of the GP diagnosis, we attempted to establish a link between the clinical and histological manifestation and the phenotype of the patient with any of the known syndromes in which ganglioneuromas, ganglioneuromatosis, GP and other intestinal polyps may occur, such as Cowden Syndrome, Multiple endocrine neoplasia type IIb, Neurofibromatosis von Recklinghausen type I, familial hamular adenomatous polyposis among others. Moreover, in addition to the preoperative staging, the following diagnostic procedures aiming at a differential diagnosis were performed:

- Measurement of parathormone, calcitonin, parathormone-related protein and noradrenalin, which revealed no abnormal values;

- Ultrasonography of the thyroid gland and parathyroid glands, revealing a left-sided thyroid nodule

but no enlarged parathyroid glands, which appeared as cold nodules in the scintigraphy. To rule out a malignancy, a fine needle biopsy of the thyroid nodule was performed and was negative.

- MRI-scan of the brain revealing no intracranial tumor, yet left-sided hemangioma of the frontoparietal skull.

An overview of the clinical differential diagnostics is shown in Table 1.

After extensive multidisciplinary postoperative counselling the patient decided to keep his residual rectum despite of the persistent multiple rectal ganglioneuromas, and therefore, an ileo-rectostomy was performed. We followed up the patient by sigmoidoscopy with rebiopsies of the persistent rectal ganglioneuromas to exclude malignant transformation, esophago gastro duodenoscopy and sonography every 6 and 12 months, respectively. After a follow up of 6 years, neither metastases, nor recurrence nor new primary malignancies were detected.

**Molecular analyses**

After genetic counselling and obtaining informed written consent, molecular analyses were performed in order to further differentiate the patient's phenotype and to identify a potential underlying germline mutation. Previous conventional genetic testing in 2010 revealed no germline mutations in known hereditary cancer syndrome genes that are associated with either polyposis or colon cancer. Given that the patient fulfilled the diagnostic criteria for Cowden Syndrome based on the National comprehensive Cancer Network (NCCN) 2010 criteria, and that he was above the threshold in the clinical scoring system proposed by Tan et al. [5], we performed firstly the investigation for germline mutations in the *PTEN* gene. All coding exons and the promotor region of *PTEN* were sequenced by Sanger-Sequencing of DNA extracted from peripheral blood lymphocytes, in which no pathogenic mutations were detected. Small deletions and duplications of *PTEN* were excluded using MLPA

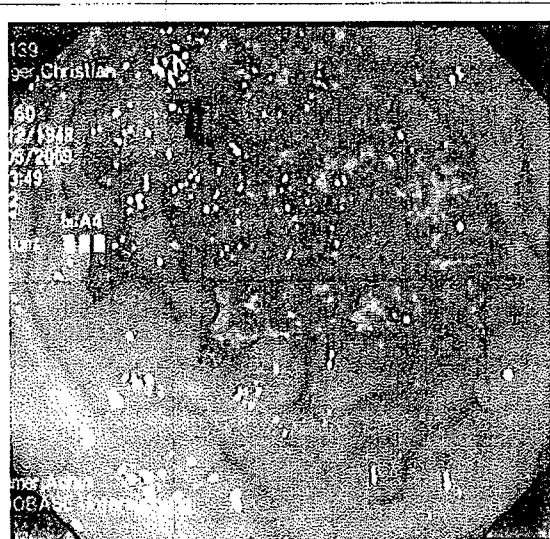
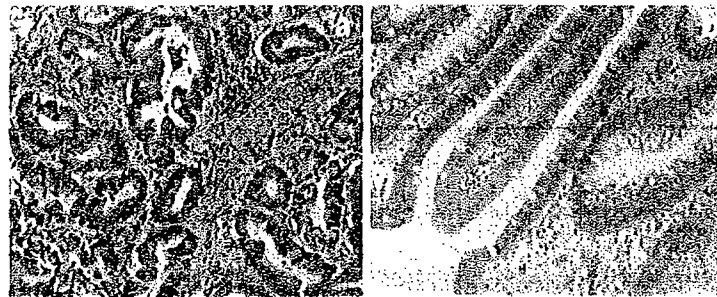


Fig. 5 Histological image of the polypoid lesion



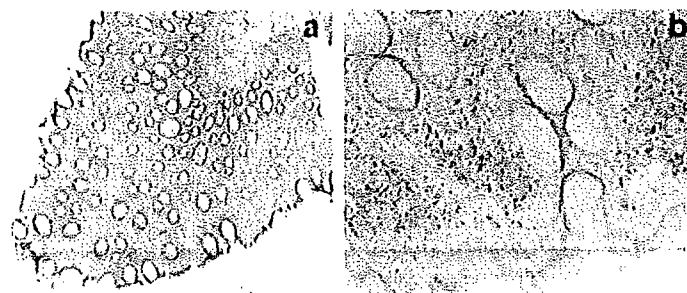
**Fig. 6** Histological images of the ganglioneuroma (a) and the colon carcinoma (b) (H&E, 40x magnification)

“Multiplex Ligation dependent Probe Amplification”; Company Kit P225 BPI. However, Sanger sequencing of DNA of paraffin-embedded tumor tissue of the colon carcinoma revealed a heterozygous somatic mutation in *PTEN* NM\_000314:c.388C>T; p.Arg130\*, resulting in a stop codon. No mutation in *PTEN* was found in the paraffin-embedded tissue of the ganglioneuroma. In addition, sequencing of all codons of additional genes potentially related to Cowden syndrome (*SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *AKT1* and *PIK3CA*) revealed no mutations. No pathogenic mutations could be found in the *R17*-protooncogene, causative for the syndrome, and in *APC*, *MUTYH*, *BMPRIA* and *SMAD1* (sequencing and MLPA), responsible for different polyposis syndromes. To exclude HNPCC, testing for microsatellite instability and immunohistochemistry on tumor tissue was performed and revealed a microsatellite stable (MSS) colon carcinoma with normal expression of the mismatch repair proteins MLH1, MSH1, MSH2 and PMS2 (data not shown). The *NF1* gene was not analyzed, because there were no clinical signs for neurofibromatosis Type 1 (no freckling, no café au lait spots, no neurofibromas).

To exclude genome wide small deletions and duplications, we performed a comparative genomic hybridization (CGH) array analysis using an Agilent 100 k microarray, which revealed no pathogenic deletions or duplications.

Karyotype analysis on cultivated lymphocytes showed a normal male karyotype 46,XY.

Despite of the negative results of the previous molecular analyses in the germline, we assumed a Cowden syndrome based on the patient’s clinical signs and manifestations. Since a somatic pathogenic heterozygous mutation was found in the colon carcinoma, we speculate that this might be the second hit in *PTEN*, while the first hit, probably the constitutional mutation, could not be found with the previously used methods. Therefore, when next-generation sequencing technique became available, we repeated the analysis on DNA from patient’s blood using the Illumina TruSight Cancer Panel target enrichment protocol (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) which covers 1737 exons of 94 cancer-relevant genes as recently described [6]. We identified a heterozygous nonsense mutation in exon 2 of *PTEN*, NM\_000314:c.138C>A; p.Tyr46\*. The Sanger Sequencing for *PTEN* Exon 2 was repeated on DNA from patient’s blood, as well as from tissue of the ganglioneuroma and the colon carcinoma and this time the mutation NM\_000314:c.138C>A was confirmed in all samples in a heterozygous state (Fig. 8). Re-evaluation of the firstly performed Sanger sequencing data revealed a small second peak at position c.138 in DNA from the ganglioneuroma and the colon carcinoma, but not from the patient’s blood (Fig. 8).



**Fig. 7** Histological images of the ganglioneuroma (a) and the colon carcinoma (b) (H&E, 40x magnification)



tested in a single analysis. In the future, this approach will allow for diagnosing more patients correctly, especially in patients with atypical phenotypes. Therefore, it cannot be excluded that other "unusual" cases in the literature without identified mutations in known genes might be considered as false-negatives. In our opinion, transition of Sanger sequencing to a target NGS based test would not only increase the reliability of diagnosis but would also cut the turn-around time and costs and improve genetic diagnosis especially in cases with unusual disease manifestations and/or in cases with multiple differential diagnoses.

**Clinical aspects**

Shickula et al. proposed to divide ganglioneuroma formations into three groups: polypoid ganglioneuromas, juvenile ganglioneuromatosis and GP [3]. GP is a very rare condition and may be associated with different syndromes and other pre-conditions [1–4]. In addition, some patients with a GP also develop adenomatous, other hamartomatous or juvenile colon polyps [2, 9–15]. The combination of GP with adenocarcinomas of the colon has been reported in a few cases only [3, 12, 16–18]. Although single ganglioneuromas are not unusual in patients with Cowden syndrome [10, 19–21], GP in Cowden syndrome is a rarity [1, 10, 18, 19] and may result in delayed diagnosis in patients with Cowden syndrome [22].

Very similar to our case, a 41-year-old patient with GP, colon adenomas and cutaneous lipomas was reported by Chan et al. in 2006 [10], however genetic testing was not performed. In 2013, Vnitsky et al. reported a 23-year-old woman who as a teenager showed macrocephaly and multiple gastrointestinal lesions including ganglioneuromas, hamartomas, lipomas, juvenile, and hyperplastic polyps in association with extra-intestinal tumors including a retroperitoneal lipoma, storiform collagenoma, and a fibrolipomatous hamartoma. This patient had not developed a malignant tumor yet. *PITX1* sequencing identified a deletion in exon 2, confirming the diagnosis of Cowden syndrome [22]. In addition, in 2014, Dubaut et al. presented the case of a 12-year-old "boy" with colonic ganglioneuromatous polyps and an adjacent colonic adenoma giving rise to a signet-ring adenocarcinoma with lymph node metastases in the setting of Cowden syndrome due to a pathologic nonsense mutation at the *PITX1* locus. Unfortunately, the location of the mutation in *PITX1* was not given [18].

Accordingly, the pertinent question is whether there is a molecular basis for such an unusual phenotype of GP in patients with Cowden syndrome. Supposedly, a germline nonsense mutation (or mutations) in the first exons of *PITX1* could be associated with a severe phenotype.

Marsh et al. found that in patients with Cowden syndrome, only 33 % of the mutations in *PITX1* were nonsense mutations, while mutations in the first three exons are rare [23]. Although genotype-phenotype analyses were performed in this study, no data were presented concerning the association with GP. However, deletion of *PITX1* has been shown to be associated with ganglioneuromatosis in the mouse [24]. Our patient as well as the two patients with genetically confirmed Cowden Syndrome combined with ganglioneuromatosis in the literature carried either nonsense mutations or a partial deletion of *PITX1*.

Based on the mentioned phenotype and the reported cases of a combination of GP with adenocarcinomas of the colon [3, 12, 16–18], it is feasible that ganglioneuromatous polyposis is a pre-malignant condition, an opinion shared by other authors [12].

Finally, the key issue is which surveillance program and what kind of prophylactic procedure should be recommended to a patient with GP. Kanter et al. recommended a proctocolectomy because of the pre-malignant condition [12]. However, it is well-known that in those patients, particularly the elderly, the quality of life after this procedure (even if performed as a restorative proctocolectomy) is worse than in patients with a colectomy and ileo rectostomy. In our patient, we initially recommended a (restorative) proctocolectomy, assuming that an attenuated adenomatous polyposis coli or another atypical polyposis syndrome with a colon carcinoma was present. However, the patient refused this procedure. Whether or not his decision will have consequences in the future clinical course remains unclear, but at least in the 6-year follow up neither metastases, recurrence nor new primary malignancies were detected in the surveillance program.

**Conclusions**

If GP with extracolonic manifestations is diagnosed, Cowden syndrome should strongly be suspected and ascertained by combined clinical and molecular diagnostics. Based on our experience, we recommend the early implementation of Panel NGS rather than classical Sanger sequencing for the genetic diagnosis, especially if various differential diagnoses are assumed. Because GP could represent a pre-malignant condition, a prophylactic surgical oncologic procedure should always be considered.

**Consent**

The patient's diagnosis, treatment, counselling and surveillance was performed following the principles of medical ethics. An ethics approval with by the ethics committee was not required.



Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and other major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)





OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO  
Sistema Sanitario Regione Liguria  
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

U.O. Attività Economiche e di Approvvigionamento

Direttore: Dott.ssa Stefania Rizzuto

Settore Gestione Contratti: Funzionario Sig.ra Elisabetta Rossi

Responsabile del procedimento: Valentina Massa

## AVVISO DI CONSULTAZIONE PRELIMINARE DI MERCATO

**DENOMINAZIONE E RECAPITO DELLA STAZIONE APPALTANTE:** Ospedale Policlinico San Martino – Largo Rosanna Benzi, 10 – 16132 GENOVA

### Oggetto:

Consultazione preliminare di mercato volta all'eventuale acquisizione, mediante procedura negoziata senza previa pubblicazione di un bando di gara, ex art. 63 comma 2 lett. b del Decreto Legislativo 18 Aprile 2016 n. 50, di "KIT reagenti CE IVD salsa MLPA (Multiplex Ligation Probe-Dependent Amplification) per l'identificazione di delezioni/amplificazioni nei geni di interesse per ogni singola patologia.". **Motivazione della pubblicazione:** con il presente avviso si intende avviare una consultazione preliminare di mercato al fine di conoscere se, diversamente dalle informazioni in possesso di questa Stazione Appaltante, altri Operatori Economici, oltre alla ditta Resnova S.r.l. possano fornire prodotti equivalenti che soddisfino le caratteristiche di seguito indicate:

- KIT reagenti CE IVD salsa MLPA (Multiplex Ligation Probe-Dependent Amplification) per l'identificazione di delezioni/amplificazioni nei geni di interesse per ogni singola patologia.

### Denominazione e recapito dell'operatore economico a favore del quale è prevista l'acquisizione:

Resnova S.r.l. – Via Cadore 14, 00045 Genzano (RM).

Si richiede ad eventuali operatori economici che dispongano di **soluzioni che ottemperino in maniera equivalente** ai requisiti tecnici e prestazionali sopra indicati di presentare adeguata documentazione tecnico- scientifica **entro e non oltre le ore 12:00 del giorno 28.12.2020** al seguente all'indirizzo: [protocollo@pec.hsanmartino.it](mailto:protocollo@pec.hsanmartino.it), contraddistinta da:

- gli estremi del mittente (ragione/denominazione sociale), indirizzo, numero di telefono, fax ed indirizzo di posta elettronica ove inviare eventuali comunicazioni;
- la dicitura: "KIT reagenti CE IVD salsa MLPA (Multiplex Ligation Probe-Dependent Amplification) per l'identificazione di delezioni/amplificazioni nei geni di interesse per ogni singola patologia".

Il termine per la presentazione della documentazione è tassativo.

Qualora entro il termine stabilito un concorrente effettui più invii, gli stessi saranno numerati secondo l'ordine di arrivo e verrà considerato valido soltanto l'ultimo.

Per eventuali chiarimenti rivolgersi al:

Funzionario referente:

Sig.ra Elisabetta Rossi - tel. 010/555.2666

[elisabetta.rossi@hsanmartino.it](mailto:elisabetta.rossi@hsanmartino.it)

Responsabile del Procedimento:

Dott.ssa Valentina Massa - tel. 010/555.2616

[valentina.massa@hsanmartino.it](mailto:valentina.massa@hsanmartino.it)

ALLEGATO ALLA DETERMINAZIONE N. 138 DEL 21 GEN 2021

(Dott.ssa Stefania Rizzuto)

COMPOSTO DA N. 1 PAGINE NUMERATE DA 1 A

**KIT reagenti CE IVD salsa MLPA per l'identificazione di delezioni/amplificazioni, per la U.O. Genetica dei Tumori Rari - Periodo 20.01.2021 - 15.12.2021 - ditta Resnova S.r.l.**

PRODOTTI	CODICE DITTA	QUANTITÀ CONTRATTUALE	IMPORTO SINGOLO	IMPORTO TOTALE ESCL. IVA	IMPORTO TOTALE INCL. IVA 22%
SALSA MLPA EK1 REAGENT KIT 100 RXN	EK1-FAM	7	€ 367,00	€ 2.569,00	€ 3.134,18
SALSA MLPA P244 AIP-MEN1-CDKN1B PROBEMIX	P244-100R	2	€ 1.127,00	€ 2.254,00	€ 2.540.258,00
SALSA MLPA P101 STK11 PROBEMIX	P101-100R	1	€ 1.127,00	€ 1.127,00	€ 1.270.129,00
SALSA MLPA P158 JUVENILE POLYPOSIS SYNDROME (JPS) PROBEMIX	P158-50R	1	€ 563,00	€ 563,00	€ 316.969,00
SALSA MLPA P016 VHL PROBEMIX	P016-50R	1	€ 563,00	€ 563,00	€ 316.969,00
SALSA MLPA P226 SDH PROBEMIX	P226-100R	1	€ 1.127,00	€ 1.127,00	€ 1.270.129,00
SALSA MLPA P225-100R PROBEMIX	P225-100R	1	€ 1.127,00	€ 1.127,00	€ 1.270.129,00
SPESE DI SPEDIZIONE		14	€ 35,00	€ 490,00	€ 17.150,00
<b>TOTALE CONTRATTUALE PERIODO 20.01.2021 - 15.12.2021 ESCLUSA IVA</b>				<b>€ 9.820,00</b>	
<b>TOTALE CONTRATTUALE PERIODO 20.01.2021 - 15.12.2021 INCLUSA IVA</b>				<b>€</b>	<b>11.980,40</b>

ALLEGATO ALLA DETERMINAZIONE N. **138** DEL **21 GEN. 2021**  
 COMPOSTO DA N. **1** PAGINE NUMERATE DA 1 A .....