

Dichiarazione di consenso informato per

CICLO A FRESCO IVF /ICSI

con TEST GENETICO PRE-IMPIANTO PER ANEUPLOIDIE (PGT-A)

ai sensi della legge 19 febbraio 2004, n. 40 (vers.1.2024)

Io sottoscritta _____ nata a _____ il _____

Io sottoscritto _____ nato a _____ il _____

Dopo aver compiuto un iter diagnostico finalizzato all'identificazione delle cause e delle possibili alternative terapeutiche alla Procreazione Medica Assistita (PMA) e dopo essere stati adeguatamente informati sulla tecnica di PMA richiediamo di sottoporci alla procedura per trovare una possibile soluzione alla nostra infertilità / sterilità di coppia.

Sezione A

In particolare, richiediamo di sottoporci a una procedura di PMA, poiché dagli accertamenti eseguiti e sottoposti allo specialista Ostetrico Ginecologo _____ e ove indicato dopo _____ consulenza dell'Andrologo/Psicologo/Genetista dell'Humanitas Fertility Center è stata posta e/o è stata confermata una diagnosi di sterilità/infertilità: _____. Ci è stato spiegato che per tale patologia il programma di procreazione assistita prevede un ciclo di _____.

Dichiariamo di aver effettuato uno o più colloqui con il _____ dell'Istituto Clinico Humanitas nel corso del/i quale/i siamo stati informati, in modo chiaro ed esaustivo, in merito ai seguenti punti:

- Alternative alla PMA:** per legge è possibile e legittimo ricorrere agli strumenti offerti dalla Legge n. 184/1983 in tema di pratiche di affidamento e adozione, come alternative alla PMA.
- Requisiti di accesso alla PMA:** per legge possono accedere a PMA coppie di maggiorenni di sesso diverso, coniugate oppure conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi, laddove sussista sterilità o infertilità inspiegate o comunque accertate da atto medico e non vi siano altri metodi terapeutici efficaci per rimuovere le cause di sterilità o infertilità (Legge n. 40/2004 art. 1, comma 1 e 2, art. 4, comma 1, e art. 5, comma 1).
- Conseguenze giuridiche dell'applicazione della PMA:** dall'applicazione di tecniche di PMA discendono i seguenti effetti giuridici (Legge n. 40/04 artt. 8, 9 e 12, comma 3):
 - i bambini nati con tecniche di PMA godono dello stato legale di figli legittimi o riconosciuti della coppia;
 - in relazione alla madre del nato da PMA vige il divieto di anonimato (cioè la madre non può dichiarare la volontà di non essere nominata nella dichiarazione di nascita ai sensi dell'art.30 del DPE n. 396/2000).
 - nel caso di PMA di tipo eterologo:
 - per il coniuge o il convivente vige il divieto di disconoscere la paternità nei casi previsti dall'art. 235, comma 1 del Codice Civile (CC) né l'impugnazione prevista dall'art. 263 del CC;
 - il donatore di gameti non acquisisce alcuna relazione giuridica parentale con il nato e non può far valere nei suoi confronti alcun diritto né essere titolare di obblighi.
 - applicazione dell'art. 76, commi 1 e 2, del DPR n. 445/2000 (atto falso punibile ai sensi del Codice Penale), in caso di dichiarazione mendace sottoscritta dai soggetti richiedenti riguardo il soddisfacimento dei requisiti necessari all'accesso alle tecniche di PMA (coppie di maggiorenni di sesso diverso, coniugate oppure conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi).
Inoltre, ai sensi art. 11 della Legge n. 40/2004 è istituito presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), il registro delle strutture autorizzate all'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita, degli embrioni formati e dei nati a seguito dell'applicazione delle tecniche medesime. L'iscrizione al registro è obbligatoria.
- Sanzioni:** sono previste sanzioni pecuniarie, amministrative e penali per chiunque a qualsiasi titolo, applichi tecniche di PMA o realizzi, organizzi o pubblicizzi la commercializzazione di gameti o embrioni o la surrogazione di maternità, in violazione delle prescrizioni della Legge n. 40/2004 (art 12, commi 2, 4, 5 e 6).
- Problemi bioetici:** il ricorso alle procedure di PMA potrebbe sollevare problemi collegati alla sensibilità etica individuale, ad esempio per la separazione tra vita sessuale e vita riproduttiva. Se per alcuni utilizzare una procedura medica per superare ostacoli al concepimento significa di fatto modificare l'assetto tradizionale della procreazione e la dignità del processo procreativo, per altri invece la procreazione è un'espressione di dignità e di libertà familiare e individuale che, come tale, può essere esercitata, specialmente quando sia in gioco la tutela della salute, anche

attraverso l'ausilio della tecnica medica. La procreazione assistita di tipo eterologo, inoltre, comportando l'estraneità cromosomica del nascituro ad uno o ad entrambi i componenti della coppia che accede alla tecnica di PMA - per il quale risulta decisivo l'utilizzo di materiale genetico proveniente da donatore/donatrice estraneo alla coppia - pone questioni con riguardo agli interessi del nato a conoscere le modalità del suo concepimento e della propria origine genetica, nonché al correlato diritto del donatore di preservare l'anonimato, ovvero di vedersi precluso ogni diritto genitoriale nei confronti del bambino nato, del quale saranno padre e madre unicamente i componenti della coppia che accede alla tecnica di PMA eterologa. Si ricorda che, al fine di evitare illecite selezioni genetiche, non è consentito scegliere particolari caratteristiche fenotipiche del donatore. Il Centro si farà tuttavia carico di richiedere una ragionevole compatibilità delle principali caratteristiche fenotipiche dei donatori con quelle della coppia, così come previsto dalla legge e dai protocolli medici attuativi.

L'Istituto pone grande attenzione all'orientamento etico- religioso delle singole coppie e ne riconosce e supporta la libera scelta di intraprendere una metodica che presuppone la fecondazione extracorporea dei gameti, la possibile crioconservazione di embrioni soprannumerari, la diagnosi di anomalie congenite preimpianto, la crioconservazione o la disponibilità alla donazione di gameti (sperma e ovociti) soprannumerari (consenso specifico).

Tali aspetti bioetici sono stati affrontati anche dalla Corte Costituzionale che si è ripetutamente pronunciata sul punto con le Sentenze n 151/09: Dichiarata illegittimità costituzionale dell'art 14 c. 1 e 2 e affermata libertà terapeutica del medico nella produzione e transfer degli embrioni a preminente tutela della salute della Donna); Sent 162/09: Dichiarata illegittimità costituzionale del divieto di PMA eterologa; Sent 96/15 Consentito accesso alla PMA a coppie fertili portatrici di grave patologia genetica e ammessa PGT (Diagnosi pre-impianto dell'embrione).

6. **Tecniche impiegabili:** il programma di procreazione assistita, ai sensi dell'art 6 L.40/04, prevede un ciclo di fecondazione in vitro con possibile associazione a tecnica d'iniezione intracitoplasmatica degli spermatozoi. L'orientamento verso una delle metodiche impiegabili, tra la IVF o ICSI, potrà essere modificato al momento del prelievo degli ovociti sulla base delle caratteristiche e del numero dei gameti ottenuti. Il programma terapeutico prevede varie fasi di seguito illustrate:

- desensibilizzazione dell'ovaio agli stimoli delle gonadotropine ipofisarie (FSH e LH), ottenuta tramite l'assunzione (per via intramuscolare, sottocutanea o nasale) di un farmaco con attività di inibizione del picco spontaneo di LH, necessaria per l'efficacia della terapia di stimolazione.
- In condizioni particolari, al fine di facilitare la risposta ovarica e sincronizzare il ciclo, può essere prescritta una terapia con farmaco estro-progestinico (pillola), estrogenico o progestinico;
- induzione della crescita di più follicoli ovarici mediante l'assunzione giornaliera di farmaci aventi lo scopo di indurre lo sviluppo di un numero sovra fisiologico, che, diversamente, andrebbero incontro a degenerazione e successivo riassorbimento (atresia follicolare). La risposta alla terapia sarà controllata mediante prelievi di sangue per il dosaggio di ormoni (17 b- estradiolo, progesterone o altri ritenuti utili nel caso in esame) di produzione follicolare ed indagini ecografiche transvaginali seriate;
- prelievo degli ovociti per via transvaginale sotto controllo ecografico attualmente eseguito in sedazione profonda (salvo condizioni specifiche che saranno discusse con la singola paziente);
- prelievo e preparazione del liquido seminale mediante tecniche atte a favorire la capacità fecondante degli spermatozoi;
- inseminazione in vitro o iniezione degli spermatozoi trattati negli ovociti prelevati (fecondazione con formazione dell'embrione);
- trasferimento degli embrioni in utero per via transvaginale sotto guida ecografica, abitualmente dopo 2-5 giorni;
- crioconservazione degli embrioni e degli eventuali ovociti disponibili non utilizzati.

7. **Impegno dei richiedenti:** La coppia dovrà eseguire, una volta formulata una diagnosi e un'indicazione alla tecnica di PMA, gli accertamenti previsti a tutela della madre e del nascituro. I test Infettivologici (Anti- HIV- 1,2 HBsAg Anti-HBc, Anti- HCV) devono essere compresi nei limiti di validità previsti dal D. Lgs. n. 16 del 25 gennaio 2010 e s.m.i. prima dell'inizio/esecuzione della procedura. La Legge n. 40/2004 non indica, per le coppie che si sottopongono a cicli d'assistenza medica con metodiche ad alta tecnologia, accertamenti diversi da quelli richiesti alle coppie alla ricerca di un concepimento spontaneo o nella quali la gravidanza sia insorta spontaneamente. Non sono, quindi, richiesti accertamenti specifici a tutela della coppia e del nascituro diversi da quelli comunemente prescritti come accertamento preconcezionale. Accertamenti specifici sono indicati solo in presenza di particolari fattori di rischio presenti nell'anamnesi della coppia e che devono essere specificati nei colloqui preliminari con l'équipe medica.

In generale sono richiesti accertamenti genetici solo in presenza di una grave dispermia:

- cariotipo: test che consente di individuare la presenza di alcune anomalie cromosomiche
- microdelezioni del cromosoma Y: anomalia cromosomica caratterizzata dalla perdita di un tratto cromosomico di piccole dimensioni del cromosoma Y

L'età materna può condizionare i risultati. Una consulenza genetica, l'amniocentesi o la villocentesi sono consigliate se

l'età materna è superiore ai 35 anni o se esistono specifiche condizioni patologiche familiari su base genetica. Esiste la possibilità di eseguire test per l'accertamento dello stato di portatore di alcune patologie autosomiche recessive con frequenza elevata nella popolazione italiana e non, il cui rischio non è definibile dalla raccolta anamnestica sulla coppia (carrier screening) e che sono attualmente consigliate da molte associazioni Internazionali (Dondrop et al., Human Reproduction 2014; Human Genetics Commission: Increasing Options, Informing Choice: A Report on Preconception Genetic Testing and Screening. Human Genetics Commission: London, UK, 2011).

Per eseguire la PMA sono richiesti accertamenti strumentali e di laboratorio per seguire l'andamento della stimolazione ovarica durante il trattamento. Questa fase, di durata variabile tra i 10 ed i 14 giorni, in funzione della risposta individuale, prevede mediamente da uno a cinque controlli ecografici ed ormonali per la donna. Durante questo periodo la paziente dovrà presentarsi ogni qualvolta lo specialista lo riterrà opportuno (mediamente a giorni alterni) nelle ore prestabilite presso il Centro; si ricorda che l'esecuzione delle visite di controllo programmate è strettamente necessaria al migliore esito della procedura. La terapia farmacologica con somministrazione giornaliera sarà comunicata in sede di controllo o telefonicamente.

Per eseguire una FIVET- ICSI, si procede alla stimolazione ovarica, ottenuta con somministrazione di opportuni farmaci (generalmente gonadotropine), al fine di ottenere un numero di ovociti superiore a quello fisiologicamente prodotto durante un ciclo ovulatorio spontaneo e per evitare l'atresia follicolare. Controlli ecografici ed ormonali effettuati nel corso della terapia, sono volti alla personalizzazione del trattamento ottenuta anche attraverso eventuali modifiche del dosaggio dei farmaci per ottimizzarne l'effetto. Quando i follicoli hanno raggiunto una condizione giudicata di maturazione ottimale, viene indotta l'ovulazione con una iniezione della gonadotropina corionica umana (hCG) o con un agonista dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), secondo il parere dello specialista. La tecnica di prelievo degli ovociti viene eseguita per via transvaginale eco-guidata. La procedura eseguibile in anestesia locale, sedazione cosciente, sedazione profonda o, raramente, in anestesia generale, viene effettuata attualmente presso il Fertility Center in sedazione profonda sotto controllo di un anestesista dedicato. Al termine della procedura e dopo un periodo variabile di osservazione, la cui durata è in funzione della stabilità clinica della paziente, la stessa viene rinviata presso il proprio domicilio.

Una volta avvenuta la fecondazione, il trasferimento embrionario viene eseguito dopo un tempo variabile tra i 2 e i 5 giorni in funzione della valutazione tecnica dello specialista medico e del biologo e della condivisione con la coppia stessa, al fine di valutare la miglior efficacia del trattamento. Trascorsi 12- 14 giorni dal transfer embrionario, sarà eseguito un dosaggio plasmatico della β hCG per verificare se è avvenuto l'impianto dell'embrione.

Sempre la L. 40/2004 impone l'obbligo del follow up (inteso come insieme di visite ed esami condotti in maniera sistematica nel contesto di programmi predefiniti) delle gravidanze e dei bimbi nati attraverso le tecniche di assistenza medica alla riproduzione.

A tal fine la coppia s'impegna a:

- fornire tutte le notizie utili per conoscere l'evoluzione e la conclusione della gravidanza, nonché lo sviluppo post-natale dei bimbi nati attraverso queste tecniche;
- consentire all'équipe medica, nei limiti imposti dal rispetto del segreto professionale e della normativa vigente, di contattare i medici curanti (ginecologo, pediatra, ecc.) al fine di poter completare il percorso di follow up. Il controllo sia prenatale e sia post-natale verrà effettuato nel rispetto della privacy della coppia, per cui non saranno rese note le specifiche della tecnica che ha dato origine al concepimento.

La presa in carico della coppia per un programma d'assistenza medica alla ricerca della gravidanza non esime la coppia dal sottoporsi agli accertamenti di screening generale ritenuti opportuni e previsti dal medico curante, dal ginecologo di fiducia o da altri specialisti con i quali la coppia deve rimanere in costante contatto. L'équipe medica del Fertility Center è disponibile in ogni momento a collaborare con i medici di fiducia della coppia e, ove richiesto espressamente, di farsi carico di richiedere o eseguire gli accertamenti di loro competenza.

8. Possibili effetti collaterali o indesiderati dei trattamenti:

- a. **Risposta inadeguata alla stimolazione ovarica** per cui non si riterrà opportuno proseguire al prelievo di ovociti. In Italia, i dati nazionali del 2021 pubblicati dall'ISS in ottobre 2023, riportano una risposta inadeguata alla stimolazione ovarica nel 8,9% delle donne trattate, con variazioni dipendenti dall'età che vanno dal 5,5% per le donne con età =34 anni e fino al 15,7% per le donne con età = 43 anni. Il Fertility Center riporta nel 2023 una percentuale di risposta inadeguata alla stimolazione ovarica pari al 8,7% considerando tutte le fasce di età.
- b. **Formazione di cisti ovariche.** Nel caso siano riscontrate formazioni cistiche ovariche al momento del primo controllo ecografico o nei controlli successivi, potrà rendersi necessaria la loro aspirazione oppure la sospensione del trattamento. Qualora la risposta alla stimolazione ovarica dovesse essere ritenuta in qualche modo inadeguata, il ciclo potrà essere sospeso in ogni momento.
- c. **Problematiche nel recupero o nell'utilizzo dei gameti.** Anche se i parametri del monitoraggio ecografico

risultassero normali, è possibile non recuperare ovociti, tenendo conto che non tutti i follicoli evidenziati nel corso delle ecografie seriate condurranno al prelievo di un ovocita e che non tutti gli ovociti prelevati avranno le caratteristiche per essere utilizzati. Inoltre, il numero degli ovociti maturi utilizzati potrà, a giudizio dell'équipe medica, essere inferiore al numero degli ovociti prelevati utilizzabili. Si sottolinea che valori nei range di normalità dei parametri ormonali e biologici riguardanti i gameti maschili e femminili, non assicurano il successo dei processi di fecondazione, di divisione degli ovociti fecondati ed il loro sviluppo successivo.

- d. **Effetti della terapia d'induzione** che comporta un rialzo per 15- 30 giorni del livello endogeno degli estrogeni e del progesterone, verso valori non dissimili da quanto avviene nelle fasi iniziali di una gravidanza. I numerosi studi sinora condotti non hanno dimostrato un'aumentata incidenza di neoplasie correlate alla somministrazione di questi farmaci. È tuttavia noto che in presenza di tumori ormono- sensibili si possa riscontrare un aumento, sebbene modesto e limitato al periodo di assunzione di tali farmaci, del potenziale di crescita del tumore stesso. Ottenuta la gravidanza, la precedente terapia d'induzione non ha dimostrato un'associazione con una maggiore incidenza di abortività spontanea, in rapporto all'età materna, mentre è stato osservato un aumentato rischio di alcune complicanze ostetriche (parto prematuro, anomalie d'impianto della placenta, ridotto peso alla nascita). Tale aumentata incidenza di complicanze ostetriche è, però, riscontrabile in tutte le pazienti infertili che concepiscono, a prescindere dal fatto che si siano sottoposte o meno a tecniche di riproduzione assistita. Il trattamento d'induzione potrebbe, comunque, comportare la comparsa o l'aggravamento di eventuali patologie già presenti nella donna (ad esempio diabete, cardiopatie, nefropatie).
9. **Probabilità di successo delle tecniche descritte.** Non è possibile per l'équipe medica garantire l'esito positivo del trattamento, tenendo conto che le percentuali di successo dei differenti trattamenti sono dipendenti da diversi fattori, come ad esempio l'età della coppia e la patologia di base che ha comportato la necessità di una PMA; inoltre, le probabilità di successo possono variare notevolmente da coppia a coppia e da ciclo a ciclo. La percentuale di gravidanza cumulativa (Cumulative Pregnancy Rate - CPR) per ciclo iniziato, riportata dal Registro Nazionale PMA nel 2021, è stata del 33,1%. La percentuale cumulativa per ciclo iniziato ottenuta lo stesso anno dal Fertility Center è stata del 50,3%. Informazioni aggiornate sugli esiti dei trattamenti eseguiti dal Fertility Center sono disponibili sul sito: www.humanitas.it/fertility.
10. **Valutazione del rischio.** Corretta valutazione dei rischi. Tutti i riferimenti statistici richiamati nelle varie voci di questo documento informativo - relativi alle problematiche inerenti la salute della donna e/o del nascituro, ovvero la sicurezza della procedura e/o dei trattamenti associati - sono stati ripresi dai documenti istituzionali del Ministero della Salute e dell'Istituto Superiore di Sanità, che riportano le statistiche nazionali specifiche per la PMA, spesso in confronto con quelle di altri paesi. Esistono, comunque, in letteratura alcune pubblicazioni scientifiche che riportano dati relativi alla valutazione dei rischi connessi all'utilizzo delle tecniche di procreazione medicalmente assistita parzialmente differenti rispetto a quelli qui riportati e in continua evoluzione. In particolare, resta da accertare con assoluta chiarezza se la maggiore incidenza di complicanze materne o per il nascituro, che alcuni studi riportano nei casi di PMA, dipenda da alcune caratteristiche quali: l'elevata età materna o la gemellarità, oppure sia legata alla PMA di per sé. Allo stato attuale della ricerca non è ancora possibile valutare dati certi relativamente alla possibilità di alterazioni epigenetiche correlate all'utilizzo di tecniche di PMA e cioè la possibilità di modificazioni ereditabili che portano a variazioni dell'espressione genica senza però alterare la sequenza del DNA. Eventuali richieste da parte della coppia di ulteriori approfondimenti rispetto ai dati contenuti in questo documento potranno essere discusse con i professionisti operanti nel Fertility Center.
- **Rischio per la madre:**
 - a. **Aumento delle dimensioni delle ovaie in relazione ai vari gradi di stimolazione ovarica** (sindrome da iperstimolazione ovarica). La stimolazione ovarica può comportare il rigonfiamento dell'addome e l'alterazione di alcuni parametri emato-chimici con necessità, nei casi più gravi, di ricovero in ospedale (
 - a. **Complicanze legate al prelievo chirurgico degli ovociti.** Il prelievo chirurgico degli ovociti può provocare complicanze prevalentemente emorragiche. La percentuale complessiva di complicanze riportata dal Registro Nazionale PMA nel 2021 è dello 0,64%. Si presentano con un'incidenza dello 0,4% nei dati del Fertility Center (Levi- Setti PE et al, Fertility and Sterility 2018) che rappresentano la più grande casistica sinora riportata in letteratura.
 - b. **Gravidanza gemellare.** Nel 2021, secondo l'ultima analisi statistica redatta dall'ISS, delle 4.652 nascite ottenute dopo transfer a fresco, l'11% risulta essere gemellare e le nascite trigemine rappresentano lo 0,2% delle nascite. Nella popolazione generale il numero di parti plurimi rappresenta l'1,7% dei parti totali. Il Fertility Center riporta nello stesso anno una percentuale di parti gemellari, comprese le nascite post trasferimento a fresco e post crioconservazione, del 7,8% e nessuna nascita trigemina.
 - c. **Gravidanza extrauterina.** Esiste la possibilità che la gravidanza s'impianti in sede anomala (es. tuba, ovarica etc), con una frequenza stimabile sino al 4%. 1,07% i casi diagnosticati nella casistica del Fertility Center nel

2022.

- d. **Complicanze collegate allo stato di gravidanza.** La gravidanza medicalmente assistita, analogamente alla gravidanza naturale, potrebbe comportare la comparsa o l'aggravamento di eventuali patologie già presenti nella donna (ad esempio diabete, cardiopatie, nefropatie).
- a. **Insorgenza di infezioni utero- ovariche.** Incidenza dello 0,04% nei dati del Fertility Center (Levi- Setti PE et al, Fertility and Sterility 2018), pari a quanto riportato nelle maggiori esperienze internazionali.

• **Rischi per il/i nascituro/i:**

- a. **Malformazioni congenite e difetti neonatali: non sono state dimostrate differenza nell'incidenza di malformazioni** congenite e difetti neonatali in esiti di gravidanze spontanee in pazienti infertili e gravidanze da PMA. Si evidenzia invece un aumento di incidenza, seppur modesto, rispetto alla popolazione generale, presumibilmente per le caratteristiche cliniche delle coppie con difficoltà riproduttive (Davies MJ et al, New England Journal of Medicine, 2012, Levi- Setti et al. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2018). Calcolando un'incidenza dell'1- 3% di malformazioni congenite nella popolazione generale, è possibile stimare un rischio di anomalie tra l'1,3% e il 3,9% nella popolazione infertile sia che concepisca spontaneamente, sia attraverso una tecnica di PMA. I dati del Fertility Center mostrano un rischio di anomalie congenite neonatali del 3,7% (105/2.800 bimbi nati), senza differenze statisticamente significative tra coppie infertili che concepiscono spontaneamente e quelle che concepiscono tramite procedure di PMA (Levi- Setti et al. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2016). Il personale sanitario di Humanitas è in tutti i casi esonerato da responsabilità per la eventuale presenza di alterazione nel patrimonio genetico nel materiale biologico, impiegato sia nelle tecniche di PMA di tipo omologo sia eterologo, non rilevate/rilevabili dagli esami clinici effettuati ai sensi della normativa vigente e dei protocolli applicati che dovessero manifestarsi durante o dopo il concepimento.
- b. **Prematurità:** per prematurità si intende la nascita prima della 37^a settimana di gestazione. Questa condizione può comportare lunghe degenze in Terapia Intensiva Neonatale, handicap di varia gravità del bambino ed è la prima causa ostetrica di morte fetale o neonatale. I parti prematuri e la condizione di sottopeso sono associati ad effetti sulla salute a lungo termine come ipertensione, coronaropatie, obesità e diabete di tipo 2. Nei parti singoli, la percentuale di parti prematuri è stata del 10,4%, del 51,3% nei parti gemellari e del 100% in quelli trigemini (Registro Nazionale PMA 2023 dati 2021).

11. **Rischi associati alla PMA di tipo eterologo:** Il Decreto Ministeriale del 11 luglio 2015 e il D. Lgs. n.16/2010 e s.m.i. illustrano:

- il procedimento di selezione del donatore/donatrice, illustrando alla coppia ricevente il significato
 - gli esami clinici, inclusa la visita di genetica medica, ai quali il donatore o la donatrice deve essere sottoposto, definendone il significato clinico dei risultati
 - i limiti e l'attendibilità dei relativi test specifici impiegati per donatori/donatrici
 - il numero massimo di nascite consentito dallo stesso donatore/donatrice ed eventuali deroghe per coppie che già hanno avuto un figlio tramite procreazione assistita di tipo eterologo.
- a. **Infezioni e/o patologie genetiche trasmissibili dal materiale donato:** vi sono per il nascituro dei rischi legati ad infezioni e/o patologie genetiche trasmissibili, non accertati o non accertabili con gli esami clinici effettuati sui gameti donati e, quindi, con impossibilità di comunicarli anticipatamente alla coppia. Al fine di ridurre il rischio di incidenza di queste patologie, si applicano dei criteri di selezione del donatore, come il buono stato di salute e l'assenza di patologie genetiche all'interno della famiglia, identificati attraverso un'accurata anamnesi genetica. Inoltre, il donatore è sottoposto agli esami volti a valutare lo stato infettivo e le caratteristiche genetiche con modalità e alle condizioni previste dalla normativa vigente e dai protocolli clinici condivisi con la coppia, al fine di evitare la trasmissione di agenti infettivi alla ricevente e per escludere a priori il rischio di trasmissione di patologie al nascituro. I protocolli clinici, combinati con l'adeguata anamnesi e l'esclusione di soggetti ad alto rischio per HIV e altre malattie sessualmente trasmissibili, possono significativamente ridurre tali rischi.
 - b. **Incontro inconsapevole tra consanguinei:** vi è la preoccupazione derivante dalla possibilità che persone nate con questa tecnica, una volta adulte, possano involontariamente e inconsapevolmente incontrarsi e intessere relazioni senza essere consapevoli della consanguineità. Al fine di rendere statisticamente trascurabile l'eventualità che possano avere luogo inconsapevolmente rapporti sessuali tra consanguinei, sono stati stabiliti limiti inderogabili circa il numero di donazioni possibili: i gameti di un donatore non possono determinare più di dieci nascite. Tale limite può essere derogato esclusivamente nei casi in cui una coppia, che abbia già avuto un figlio tramite PMA di tipo eterologo, intenda nuovamente sottoporsi a tale pratica utilizzando i gameti del/della medesimo/a donatore/donatrice, qualora disponibili.

12. **Impegno di comunicare al Centro, in caso di accesso a tecniche di PMA di tipo eterologo, eventuali patologie insorte, anche a distanza di tempo, nella donna, nel nascituro o nel nato, e di cui è ragionevole ipotizzare la**

presenza antecedente alla donazione : sebbene l'anonimato dei donatori sia sempre tutelato, al fine di salvaguardare la salute di tutti i soggetti coinvolti nel percorso di PMA di tipo eterologo (donatore/i, madre, nascituro e/o nato), le cellule riproduttive derivanti da donazione risulteranno sempre tracciabili in forza di specifiche disposizioni di legge. Tali disposizioni garantiscono che il percorso delle cellule riproduttive dal donatore/donatrice al nato e viceversa sia sempre tracciato, a tal fine è stato inoltre istituito il Registro Nazionale dei Donatori. Il Centro ha un impegno inderogabile a notificare all'Autorità Regionale e al Centro Nazionale Trapianti tutte le informazioni disponibili attinenti alle presunte reazioni avverse gravi e cioè deve comunicare ogni "risposta non voluta nel donatore o nel ricevente, compresa una malattia trasmissibile, connessa con l'approvvigionamento o l'applicazione sull'uomo di tessuti o cellule, che provochi la morte, metta in pericolo la vita o produca invalidità o incapacità dell'interessato, o ne produca o prolunghi l'ospedalizzazione o lo stato di malattia. È dunque fondamentale che la coppia abbia compreso il proprio dovere di comunicare al Centro eventuali patologie insorte, anche a distanza di tempo, nella donna, nel nascituro o nel nato e di cui è ragionevole ipotizzare la presenza nelle cellule riproduttive antecedentemente alla donazione".

13. **Conseguenze della mancata comunicazione delle modalità di concepimento al nato da fecondazione eterologa:** il nato da fecondazione di tipo eterologo, una volta adulto, potrebbe incorrere in una ricostruzione errata della propria storia clinica (anamnesi), laddove non venga messo a conoscenza delle modalità del proprio concepimento. Le responsabilità per eventuali conseguenze negative sulla salute fisica e psichica del soggetto nato con PMA eterologa, non potranno dunque poi essere imputate al Centro presso il quale è stata effettuata la procedura, laddove il nato da fecondazione di tipo eterologo non sia stato informato delle modalità riguardanti la tecnica di concepimento applicata. Sebbene vi sia questo rischio, l'anonimato del donatore non potrà comunque essere violato.
14. **Volontarietà e gratuità della donazione di gameti, ai sensi dell'art. 12 del D. Lgs. n. 191/2007, e obbligo di non rivelabilità dell'identità dei riceventi al donatore (o alla sua famiglia) e viceversa, ai sensi dell'art. 4 del D. Lgs. n. 191/2007:** laddove i componenti della coppia avessero espresso la volontà di donare i gameti soprannumerari a fini di donazione per:

- Ricerca
- PMA eterologa

tale scelta, a carattere gratuito, deve essere acquisita in forma scritta. I gameti donati vengono anonimizzati, non permettendo a ricercatori e riceventi (in caso di procreazione assistita) di risalire all'identità del/la donatore/donatrice o alla sua famiglia. Parimenti, l'identità delle persone che ricevono i gameti donati non sarà rivelata al/alla donatore/donatrice o alla sua famiglia.

15. **Possibili effetti psicologici per i singoli richiedenti, per la coppia e per il nato, conseguenti all'applicazione delle tecniche di PMA, con particolare riguardo alle specificità delle tecniche di PMA di tipo eterologo:** Numerosi studi hanno indagato il vissuto psicologico delle coppie che si sottopongono a tecniche di PMA, provate spesso da un lungo e difficile percorso di ricerca; tali studi hanno dimostrato, rispetto alle coppie con figli concepiti senza ricorso alle tecniche di PMA, una maggiore armonia della coppia, con ridotto numero di separazioni/diversi ed un maggiore attaccamento ai figli, con un più alto grado di ansia per la loro salute, con richiesta di ricoveri ospedalieri spesso ingiustificati nei primi anni di vita. Forse per questo motivo questi bambini nella prima infanzia possono presentare disturbi psicosomatici di non grave entità, pianti notturni, qualche problema di alimentazione e frequentano con meno regolarità la scuola. Attorno agli 8 – 10 anni, però, scompaiono i sintomi psicosomatici e la frequenza scolastica si riallinea a quella dei compagni. Un supporto psicologico è consigliato ed è offerto dal nostro Istituto in preparazione e nel corso del/dei cicli di terapia. La competenza dello psicologo può sostenere il confronto sulle motivazioni di entrambi i componenti della coppia ad intraprendere e a proseguire il percorso terapeutico, l'"elaborazione del lutto" legato agli insuccessi e può aiutare la coppia a fare bilanci corretti, evitando i pericoli dell'accanimento terapeutico. Condizione che necessita particolare attenzione è l'impatto negativo di un insuccesso, che conduce spesso a rinunciare ad ulteriori tentativi, sebbene la prognosi sia ancora favorevole alla coppia; infatti, pur non essendo state riscontrate differenze significative nella probabilità di successo nelle coppie con patrimonio ovarico conservato sino oltre il sesto tentativo, solo un numero molto limitato di coppie si avvale di questa opportunità (drop-out).
Con riguardo ai nati da tecniche di PMA eterologa, non si riscontrano in letteratura medica significative turbe psichiche a seguito dell'acquisizione della conoscenza da parte del figlio circa l'estraneità genetica rispetto al/i genitori legalmente riconosciuti. Ove il nato manifesti interesse ad avere informazioni circa la propria discendenza genetica potranno ipotizzarsi percorsi personalizzati con l'assistenza dello psicologo entro i limiti della vigente normativa in tema di tracciabilità e tutela dell'anonimato del donatore/donatrice. Nella cosiddetta eterologa parziale, effetti psicologici possono derivare dall'asimmetria esistente nella coppia relativamente all'estraneità genetica del nato rispetto a uno soltanto dei due genitori.
16. **Possibilità di revoca del consenso da parte dei richiedenti fino al momento della fecondazione dell'ovocita** dell'ovocita una volta espressa da parte della coppia la volontà di procedere con tecniche di PMA, attestata dalla sottoscrizione del presente consenso, devono trascorrere almeno sette giorni prima che si possa procedere con la

fecondazione dell'ovocita/i; durante questi sette giorni ogni componente della coppia, congiuntamente o disgiuntamente, può legittimamente cambiare la propria scelta e revocare il consenso. Il consenso non potrà essere revocato dopo la fecondazione dell'ovocita (avvenuta fecondazione e sviluppo dell'embrione e/o sua crioconservazione). La partner femminile avrà diritto, salvo controindicazioni di ordine clinico, di prendere decisioni riguardo al trasferimento degli embrioni.

La sentenza della Corte Costituzionale n. 161/2023 sul punto di irrevocabilità del consenso dei pazienti dopo la fecondazione dell'ovocita previsto dall'art. 6 comma 3 della L. 40/2004, si è espressa come di seguito riportato:

- Il diritto della donna di procedere al trasferimento dell'embrione crioconservato, fino alla permanenza del requisito "dell'età potenzialmente fertile", indipendentemente dalla revoca della volontà del partner, ovvero dalla contraria volontà di questi per effetto dell'intervenuta separazione/divorzio, cessazione della convivenza. Il partner/ex partner assumerà in tal senso tutti i diritti/obblighi giuridici di natura patrimoniale, personale e morale nei confronti del nato in forza del consenso alla fecondazione dell'ovocita reso con la sottoscrizione del presente consenso.

17. **Possibilità per il medico responsabile della struttura di non procedere alla PMA per motivi di ordine medico-sanitario:** il Direttore del Fertility Center potrà, in qualsiasi fase di applicazione della tecnica, decidere di non procedere alla PMA esclusivamente per motivi di ordine medico-sanitario, motivando tale scelta per iscritto.

18. **Limiti all'applicazione delle tecniche su embrioni, di cui all'art.14 della L.40/2004 come modificato dalle Sentenze della Corte Costituzionale:** Più specificatamente l'art. 14 riportava nei diversi commi:

1. È vietata la crioconservazione e la soppressione di embrioni, fermo restando quanto previsto dalla legge 22 maggio 1978 n.194 (sull'interruzione volontaria di gravidanza);
2. Le tecniche di produzione degli embrioni, tenuto conto dell'evoluzione tecnico- scientifica, non devono creare un numero di embrioni superiore a quello strettamente necessario ad un unico e contemporaneo impianto, comunque non superiore a tre.
3. Qualora il trasferimento nell'utero degli embrioni non risulti possibile per grave e documentata causa di forza maggiore relativa allo stato di salute della donna, non prevedibile al momento della fecondazione, è consentita la crioconservazione degli embrioni stessi fino alla data del trasferimento, da realizzare non appena possibile.
4. È vietata la soppressione di alcuni embrioni o feti nel caso più embrioni risultassero impiantati a seguito del trasferimento, salvo nei casi previsti dalla legge 22 maggio 1978, n. 194 (sull'interruzione di gravidanza).
5. I componenti della coppia sono informati sul numero e, su loro richiesta, sullo stato di salute degli embrioni prodotti da trasferire nell'utero.
6. La violazione di uno dei divieti e degli obblighi di cui ai punti precedenti è punita con la reclusione fino a tre anni e con la multa da 50.000 a 150.000 euro.
7. È disposta la sospensione fino ad un anno dall'esercizio professionale nei confronti dell'esercente una professione sanitaria condannato per uno dei reati compresi in questo articolo.
8. È consentita la crioconservazione dei gameti maschili e femminili, previo consenso informato e scritto.
9. La violazione delle disposizioni di cui al comma 8 è punita con la sanzione pecuniaria da 5.000 a 50.000 euro.

19. **Trasferimento degli embrioni in utero e crioconservazione degli embrioni soprannumerari (art. 14 L. n. 40/04 e Sent. Corte Costituzionale n 151/09):** Come previsto dall'art. 14 della L. 40/04 e precisato dalla Sentenza della Corte Costituzionale n. 151/09, le tecniche di produzione degli embrioni da impiegare nel trattamento di PMA non devono creare un numero di embrioni superiore a quello strettamente necessario alla procreazione; il trasferimento degli embrioni così creati deve essere effettuato non appena possibile, senza recare pregiudizio della salute della donna. Qualora l'analisi microscopica degli embrioni evidenzia anomalie irreversibili dello sviluppo (embrioni sviluppati dopo divisione di zigoti con numero anomalo di pronuclei), la coppia sarà informata prima del trasferimento e potrà indicare o confermare la volontà di non procedere al trasferimento degli embrioni anomali (Sezione C).

A seguito della Sentenza della Corte Costituzionale n. 151/09 è da evidenziare che, a tutela della salute della donna, è venuto meno l'obbligo di:

- Effettuare un unico e contemporaneo impianto degli embrioni creati, al fine di ridurre il rischio di gravidanze plurime;
- Limitare la creazione degli embrioni ad un numero massimo di tre, così da evitare la ripetizione di cicli di stimolazione ovarica.

Ad oggi, quindi, vi è la possibilità di creare un numero di embrioni superiori a quelli utilizzati nel singolo procedimento di procreazione assistita per il quale risultano creati. Gli embrioni eventualmente creati in eccedenza, qualora non vengano evidenziate gravi anomalie irreversibili del loro sviluppo, dovranno essere obbligatoriamente crioconservati per essere utilizzati in trattamenti procreativi successivi. Ove non si voglia o non si possa procedere a trattamenti successivi di PMA, essi dovranno essere crioconservati a tempo indeterminato (embrioni soprannumerari).

Ogni decisione relativa al numero di embrioni prodotti, utilizzati e crioconservati verrà adeguatamente motivata secondo le Linee Guida (G.U. 107 del 09/05/2024) e le buone pratiche terapeutiche riportate nella sezione B. Alternativamente, l'équipe medica, per evitare il rischio di gravidanze multiple, dovrà utilizzare solo un numero ridotto di ovociti, riducendo le possibilità di ottenere embrioni evolutivi, sino alla possibile assenza di embrioni da trasferire.

A seguito di PMA, quindi, è possibile la produzione di eventuali embrioni evolutivi soprannumerari. La decisione di crioconservare tali embrioni dovrà essere espressa dalla coppia con sottoscrizione di una dichiarazione (vedi sezione B).

L'opportunità di crioconservare eventuali embrioni soprannumerari è legata alle seguenti circostanze:

- a. Limitazione del rischio di gravidanze multiple: il contemporaneo trasferimento di tutti gli embrioni fecondati e sviluppati in vitro può comportare un alto rischio di gravidanza multipla con le connesse complicanze per la paziente e per il feto; per tale motivo si rende opportuno crioconservare gli embrioni soprannumerari. La crioconservazione in questi casi è finalizzata a consentire alla coppia il conseguimento di una probabilità ottimale di successo di gravidanza, riducendo i rischi correlati all'insorgenza di gravidanze multiple (rischi sia per la paziente e sia per il feto).
- b. Possibilità di avvalersi di embrioni crioconservati nel caso di primo tentativo di PMA fallito: la presenza di embrioni crioconservati consentirà di avere una probabilità di gravidanza, in caso d'insuccesso del trasferimento a fresco, consentendo alla paziente di evitare di sottoporsi a successivi cicli di induzione dell'ovulazione, sedazione e prelievo di ovociti.
- c. Possibilità di avvalersi di embrioni crioconservati per ottenere una o più gravidanze: nel caso di una prima gravidanza ottenuta con il trasferimento a fresco o dopo crioconservazione consentirà di poter ottenere un'altra gravidanza, senza sottoporsi a ulteriori cicli di induzione dell'ovulazione, sedazione e prelievo di ovociti.
- d. Rinvio dell'impianto dell'embrione: in presenza di particolari patologie la crioconservazione consentirà il trasferimento degli embrioni in una fase successiva, come nei casi di:
 - grave impedimento o rischio per la paziente;
 - potenziale rischio per il feto;
 - condizioni che riducono o annullano le possibilità d'impianto dell'embrione.
- e. Necessità di fecondazione di tutti gli ovociti disponibili: alcune condizioni cliniche e/o patologiche richiedono l'utilizzo di tutti gli ovociti utilizzabili ottenuti e la conseguente crioconservazione degli embrioni soprannumerari. In base alle indicazioni sulle modalità procedurali della PMA elaborate da "Società Italiane di Medicina della Riproduzione" e dopo la Sentenza della Corte Costituzionale sulla Legge n. 40/2004 (Corte Costituzionale sent. n.151, 8 maggio 2009) in tutti i casi in cui non sia auspicabile eseguire ripetuti cicli di induzione della crescita follicolare multipla a causa di una pregressa o persistente patologia presente al momento in cui la coppia fa richiesta di accesso ad un programma di PMA e la coppia abbia firmato un consenso alla eventuale crioconservazione embrionaria, si cercherà di ottimizzare un ciclo di PMA utilizzando tutti gli ovociti idonei (salvo condizioni particolari, non verranno utilizzati comunque più di 10- 12 ovociti), procedendo con la crioconservazione degli embrioni soprannumerari da trasferire in tempi successivi. Nel dettaglio, alcune di tali condizioni sono:
 - pregressa Sindrome da Iperstimolazione Ovarica (SIO) o pazienti ad alto rischio di SIO;
 - pazienti con ripetuto fallimento d'impianto e/o di età superiore ai 38 anni;
 - trombofilia congenita o acquisita;
 - azoospermia non ostruttiva o criptoospermia e, comunque, in tutti i casi in cui vi sia un elevato rischio di mancato recupero di gameti maschili o di grave riduzione delle probabilità di fecondazione;
 - pregresse neoplasie ormono-dipendenti (ovaio, mammella, tiroide ecc.);
 - malattie autoimmunitarie (lupus, sclerosi multipla ecc.);
 - pregressa chirurgia pelvica per endometriosi di III-IV stadio;
 - patologie sistemiche (cardiovascolari, renali, epatiche ecc.);
 - pazienti sottoposte a diagnosi preimpianto;
 - pazienti sottoposte a trapianto d'organo;
 - pregresso totale fallimento della fecondazione;

Al fine di ridurre il numero degli embrioni non evolutivi crioconservati verranno crioconservati (salvo condizioni eccezionali) solo gli embrioni che raggiungono lo stadio di blastocisti (5- 6 giornata) che saranno crioconservati singolarmente.

Riguardo al trasferimento degli embrioni nei cicli a fresco e crioconservazione l'équipe medica si atterrà alle indicazioni del "Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology", del "Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine" (Fertil Steril 2021;116:651-4) e alle "2023 ESHRE Guideline on the

number of embryos to transfer during IVF/ICSI" secondo le quali viene trasferito 1 solo embrione nelle pazienti di età inferiore a 38 anni con buona prognosi, soprattutto se viene trasferito allo stadio di blastocisti. In condizioni particolari, come il trasferimento di embrioni sottoposti a screening preimpianto e di blastocisti crioconservate, verrà proposto il trasferimento di 1 solo embrione.

La coppia dovrà esprimere il consenso alla possibilità di crioconservazione di embrioni soprannumerari (Sezione B) al trasferimento a fresco e/o il consenso alla crioconservazione degli ovociti soprannumerari (Sezione C).

La crioconservazione degli ovociti è necessaria, potendosi verificare:

- l'impossibilità di ottenere spermatozoi il giorno del prelievo degli ovociti
- il recupero di un numero di ovociti superiore a quello ottimale per l'immediato utilizzo, ma impiegabili in un secondo tempo, evitando una successiva stimolazione, con possibilità di avere sia ovociti sia embrioni crioconservati.

20. **Conseguenze del rifiuto alla conservazione degli embrioni soprannumerari:** il rifiuto della possibilità di crioconservare degli embrioni, comporta che l'équipe medica possa utilizzare un numero ridotto di ovociti (2- 3 ovociti in relazione alle condizioni specifiche della coppia) per limitare il rischio di gravidanze multiple, e che tutti gli embrioni formati debbano essere trasferiti a fresco immediatamente. Non essendo in nessun modo prevedibile la probabilità di fecondazione e divisione degli ovociti, potrebbe verificarsi la condizione di non avere embrioni da trasferire.
21. **Destinatari specifici di informazioni e dati personali:** si riportano gli obblighi informativi che il Fertility Center deve ottemperare in attuazione dei seguenti riferimenti normativi:
- Legge n. 40/2004 art. 11, commi 1- 5 tutti i centri devono fornire i dati relativi ai cicli di trattamento e agli esiti delle gravidanze in forma aggregata al 'Registro Nazionale PMA', istituito presso l'ISS;
 - Deliberazione di Regione Lombardia IX/001054 del 22 dicembre 2010, tutti i centri devono fornire i dati relativi ai cicli singoli di PMA alla 'Rete Lombarda della Procreazione Medicalmente Assistita', con modalità informatiche idonee ad assicurare l'anonimato della coppia;
 - Legge n. 190/2014 art. 1, comma 298, nei casi di ricorso a tecniche di fecondazione eterologa, il Centro è tenuto a comunicare, con modalità informatiche idonee ad assicurare l'anonimato dei donatori, i propri dati al Centro Nazionale Trapianti per la tenuta del Registro nazionale dei donatori di cellule riproduttive a scopi di PMA di tipo eterologo, al fine di garantire la tracciabilità del percorso delle cellule riproduttive dal donatore al nato e viceversa.
22. **Costi economici:** i costi della procedura di PMA selezionata sono stati comunicati alla coppia sia per la prestazione eseguita in regime di solvenza sia in caso di cicli erogati in convenzione con il Sistema Sanitario Nazionale (SSN). Si ricorda che introduzione della PMA tra le prestazioni erogabili dal SSN come Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) potrebbe modificare la compartecipazione alla spesa da parte della coppia per alcune delle procedure previste; tale variazione, comunque, sarà prontamente comunicata alla coppia dal Fertility Center non appena disponibile. Le procedure di donazione dei gameti in convenzione con il SSN sono possibili solo seguendo i criteri e le modalità previste in Regione Lombardia per le richieste della Nostra Struttura alla la Banca Regionale presso Ospedale Niguarda.

Sezione B

CONSENSO ALLA CRIOCONSERVAZIONE EMBRIONARIA

I. Siamo stati informati che la crioconservazione è richiesta:

- laddove il contemporaneo trasferimento di tutti gli embrioni fecondati e sviluppati in vitro possa comportare un alto rischio di gravidanza multipla con le conseguenti complicanze per la donna e per il feto;
- laddove le condizioni di salute della donna non consentano l'impianto dell'embrione, se non con grave rischio di complicanze per la paziente e per l'embrione stesso;

Abbiamo compreso le motivazioni e le implicazioni correlate alla crioconservazione di embrioni, ossia che:

- questa tecnica consentirà di procedere ad un ulteriore tentativo di impianto ove il primo dovesse fallire, evitando in tal modo il ricorso ad un nuovo ciclo di stimolazione ovarica;
- la percentuale di sopravvivenza degli embrioni dopo la crioconservazione non è stimabile e può variare dallo 0 al 100%;
- le possibilità di impianto della gravidanza non possono essere garantite e sono variabili in base al numero e qualità degli embrioni;
- non si è riscontrato un aumento di difetti congeniti e di sviluppo nelle gravidanze insorte dopo crioconservazione degli embrioni rispetto a quanto osservato in concepimenti spontanei nelle coppie infertili;
- il trasferimento potrà essere eseguito su ciclo spontaneo o, in alternativa, è prevista l'assunzione di farmaci

(estrogeni e progesterone) per via orale o transdermica, vaginale o intramuscolare, al fine di favorire lo sviluppo della mucosa endometriale e che tale terapia, sebbene in rari casi, non sia esente da effetti collaterali;

- la domanda di crioconservazione degli embrioni è espressa in modo consensuale da entrambi i partner;
- la coppia non avrà diritto ad alcun indennizzo nel caso in cui, per qualsiasi motivo e/o nonostante le cure del Fertility Center, si verificasse il deterioramento o la perdita del materiale depositato;

II. Confermiamo di aver sostenuto un colloquio preliminare, durante il quale i sanitari hanno risposto ai nostri quesiti e chiarito i dubbi riguardo alla procedura che dovremo nel futuro affrontare, inclusa la percentuale di successo.

III. Inoltre:

- a. Abbiamo preso visione, compreso ed accettato tutte le clausole espresse nel presente consenso, compresa quella riportata nella sez. A, p.to n. 17,18,19 in forza della quale viene chiarito che gli embrioni crioconservati non potranno in ogni caso essere distrutti o eliminati, se considerati vitali o evolutivi;
- b. Humanitas non potrà proseguire a tempo indefinito la crioconservazione degli embrioni, salvo specifiche condizioni che dovranno essere singolarmente sottoscritte con il Fertility Center. Humanitas potrà decidere in ogni momento di consegnare gli embrioni crioconservati alla coppia/paziente, che dovranno/dovrà provvedere e sostenere i costi del loro trasferimento presso altro Istituto dei Tessuti, secondo la normativa di Legge prevista per il loro trasporto e stoccaggio;
- c. Siamo consapevoli che gli embrioni crioconservati dovranno essere in futuro trasferiti in utero. Gli embrioni non utilizzati, saranno custoditi presso Humanitas Research Hospital per un tempo non definibile in base all'attuale legislazione o spostati in un Centro collettore, in caso di modifiche dell'attuale legislazione;
- d. In attuazione di quanto disposto all'art. 14 delle Linee Guida Ministeriali 20/03/24 (G.U. n 107 del 9 maggio 2024) in relazione all'art 14 della L. 40/04 saranno a carico del Fertility Center i costi connessi alla crioconservazione degli embrioni finalizzati all'utilizzo nel ciclo/i di PMA programmato/i da svolgersi entro e non oltre 1 anno dall'effettuazione della crioconservazione iniziale (ovvero del trasferimento da altra struttura) o dal termine della gravidanza. Decorso tale termine, **i costi per il mantenimento (deposito) degli embrioni saranno a carico della coppia** indipendentemente dalla circostanza che questa abbia o meno effettuato la dichiarazione di abbandono del materiale biologico ai sensi del DM 4/8/2004. Il pagamento del deposito, richiesto alla scadenza dell'anno, potrà essere effettuato al PARC del Fertility Center o tramite bonifico bancario a favore di Humanitas Mirasole SPA;
- e. Siamo consapevoli che, come precisato dalla Corte Costituzionale con Sent n. 161/2023, anche in assenza di un consenso del partner o ex partner, la sola partner femminile avrà la possibilità di richiedere lo scongelamento ed il trasferimento in utero degli embrioni crioconservati e che il Fertility Center acconsentirà ove non esistano, a parere insindacabile del Responsabile Medico del Fertility Center, controindicazioni cliniche alla gravidanza. Analogamente ai sensi dell'art 6 delle Linee Guida 20/3/24 "la donna può richiedere il trasferimento dell'embrione anche se il partner sia deceduto (Cass., 15 maggio 2019, n. 13000)";
- f. La richiesta di trasferimento degli embrioni crioconservati ad altro Centro può essere effettuata dalla partner femminile o dalla coppia, salvo condizioni che saranno oggetto di una specifica decisione della Direzione. La partner femminile o la coppia si farà carico delle procedure previste e del costo del trasferimento stesso, secondo quanto previsto dalla normativa.

Alla luce di quanto sopra esposto, letto e compreso:

- SI** Esprimiamo il nostro consenso alla crioconservazione di eventuali embrioni sviluppati nel Laboratorio del Fertility Center e non trasferiti in utero a seguito di valutazione da parte dell'équipe medica e intendiamo quindi avvalerci della possibilità di crioconservazione degli embrioni soprannumerari.
- NO** Non intendiamo usufruire della possibilità di crioconservazione degli embrioni soprannumerari e siamo quindi consapevoli delle condizioni che impongono all'équipe medica l'utilizzo di un numero ridotto di ovociti.

Sezione C

CONSENSO AL TRASFERIMENTO IN UTERO DI EMBRIONI CON ANOMALIE DI SVILUPPO

Siamo stati informati a cura del Responsabile Medico del Fertility Center o da un suo incaricato della possibilità:

- di incorrere nel riscontro di embrione/i che presenta/presentano una probabile grave ed irreversibile anomalia dello sviluppo (numero anomalo di pronuclei);

• di rifiutare il trasferimento embrionario in caso di riscontro di probabile grave ed irreversibile anomalia dello sviluppo. Qualora venissero osservati dallo staff embriologico, embrioni con probabile grave ed irreversibile anomalia dello sviluppo, richiediamo che gli embrioni anomali:

NO NON vengano trasferiti in utero

SI vengano comunque trasferiti in utero

Sezione D

SCHEDA INFORMATIVA E CONSENSO AL PROGRAMMA DI CRIOCONSERVAZIONE DEGLI OVOCITI

Siamo stati informati della possibilità di crioconservazione degli ovociti.

Rispetto alla crioconservazione degli ovociti ci è stato comunicato che:

- la disponibilità di ovociti congelati permette alla donna di non sottoporsi ad una nuova terapia di stimolazione e ad un successivo prelievo di gameti femminili;
- rappresenta una procedura utile nella ricerca di una gravidanza, in particolar modo qualora non fosse possibile ottenere spermatozoi il giorno del prelievo ovocitario;
- tale tecnica ha dato risultati molto difforni tra i vari Centri di PMA e che l'ASRM (*American Society for Reproductive Medicine*) la considera non più sperimentale dal gennaio 2013.

A seguito delle informazioni che ci sono state offerte abbiamo compreso che:

- la percentuale di sopravvivenza degli ovociti dopo crioconservazione non è stimabile e può variare dallo 0 al 100%;
- solo alcuni degli ovociti (metafase II) potranno essere crioconservati e per ottenere una fecondazione sarà necessario impiegare una micro-iniezione dello sperma (ICSI);
- le possibilità di fecondazione degli ovociti, divisione ed impianto della gravidanza, allo stato attuale delle conoscenze, possono variare in base al protocollo utilizzato ed i risultati ottenuti nelle strutture che offrono questa possibilità sono meno uniformi che per altre metodiche;
- non si è riscontrato un aumento di difetti congeniti e di sviluppo nelle gravidanze insorte dopo crioconservazione degli ovociti, sebbene il numero di bimbi nati attraverso questa metodica sia ancora inferiore a quello osservato per altre metodiche.

Siamo, dunque, consapevoli che:

- la domanda di crioconservazione dei gameti è una libera scelta espressa dalla partner femminile;
- al momento del deposito (data della crioconservazione o trasferimento da altra struttura), di durata di dodici mesi, sarà richiesto un contributo annuale alle spese di mantenimento della crioconservazione. Al termine dei dodici mesi la richiesta di deposito dovrà essere rinnovata; in mancanza di una richiesta di rinnovo di deposito da parte della paziente, e pagamento della relativa quota, il Centro, decorsi 90 giorni mesi dalla scadenza, sarà autorizzato allo smaltimento degli ovociti crioconservati;
- Humanitas:
 - a. non potrà proseguire a tempo indefinito la crioconservazione degli ovociti, salvo condizioni specifiche che dovranno essere singolarmente sottoscritte;
 - b. potrà decidere in ogni momento di consegnare gli ovociti crioconservati alla coppia/paziente, che dovranno/dovrà provvedere a sostenere i costi del loro trasferimento e stoccaggio presso altro Istituto dei Tessuti, secondo la normativa vigente, o richiederne la distruzione o la donazione a fine di studio e ricerca, o, ove esistano specifiche condizioni, la donazione a fini riproduttivi;
- ove le pazienti, per l'ipotesi del proprio decesso, successivo alle procedure di crioconservazione, volessero assegnare al partner superstite la disponibilità dei gameti crioconservati, dovranno espressamente manifestare al medico tale volontà;
- l'utilizzo dei gameti crioconservati è consentito presso il Fertility Center sino ad un'età potenzialmente fertile, salvo condizioni specifiche di aumentato rischio per la salute della madre e di complicanze della gestazione, che saranno oggetto di giudizio insindacabile del Responsabile Medico del Fertility Center;
- la richiesta di trasferimento dei gameti crioconservati ad altro Centro può essere effettuata solo dalla sottoscrittente, che si farà carico delle procedure previste e del costo del trasferimento stesso, secondo quanto previsto dalla normativa;
- la paziente è informata del fatto che non avrà diritto ad alcun indennizzo nel caso in cui, per qualsiasi motivo e/o

nonostante le cure dell'Istituto, si verificasse il deterioramento o la perdita del materiale depositato;

- in caso di decesso, la paziente, salvo diverse indicazioni normativa o differente espressione di volontà, di seguito raccolta, autorizza Humanitas Research Hospital alla distruzione degli ovociti crioconservati.

Alla luce di quanto sopra esposto, letto e compreso:

- SI Intendo avvalermi della possibilità di crioconservazione degli ovociti, qualora fossero prelevati in un numero superiore a quelli utilizzati e che questa condizione non esclude la possibilità di crioconservazione di embrioni non trasferiti, qualora si sia espresso parere favorevole.
- NO Non intendo usufruire della possibilità di crioconservazione degli ovociti e desidero che gli ovociti soprannumerari siano:
- a) Distrutti
- b) Utilizzati solo a fini di studio e ricerca secondo il consenso da me di seguito liberamente espresso
- c) **Utilizzati anche a scopo di donazione ad una coppia infertile** secondo i limiti e le norme previste per la donazione di ovociti a fini procreativi, ove sussistano le condizioni previste dalla legge secondo un consenso specifico da me liberamente espresso.

Dichiaro altresì, in caso di mio decesso di:

- SI Assegnare gli ovociti al partner superstite
- NO NON assegnare gli ovociti al mio partner (distruzione degli ovociti)

Sezione E

CONSENSO ALLA DONAZIONE DEI GAMETI SOPRANNUMERARI PER FINI DI STUDIO E RICERCA (OVOCITI E SPERMATOZOI NON UTILIZZABILI PER LA COPPIA E IMPIEGATI IN STUDI NON PROCREATIVI)

- SI Acconsentiamo alla donazione
- NO NON acconsentiamo alla donazione

Sezione F

CONSENSO AL TRATTAMENTO DI FECONDAZIONE ASSISTITA PER PAZIENTI CON PATOLOGIE SPECIFICHE IN CORSO O POTENZIALI E CONDIZIONI DI AUMENTATO RISCHIO

(Attenzione: QUESTA SEZIONE VIENE COMPILATA IN COLLABORAZIONE CON LO SPECIALISTA DI HUMANITAS FERTILITY CENTER)

Io sottoscritto _____ certifico che gli accertamenti non hanno evidenziato una condizione di aumentato rischio specifico per le patologie oggetto dello screening e che, dall'anamnesi fornita dalla coppia, non emergono condizioni di aumentato rischio rispetto alla popolazione generale.

Sezione G

TEST GENETICI PREIMPIANTO

I test genetici preimpianto sono proposti a coppie che hanno richiesto di essere sottoposte ad un ciclo di concepimento assistito denominato “fecondazione in vitro e trasferimento in utero degli embrioni” e che vogliono avere informazioni sullo stato di salute degli zigoti e degli embrioni formati nel trattamento indicato.

I test di seguito elencati vengono raccomandati alla coppia dal Medico del Fertility Center in funzione del rischio della presenza nell’embrione dell’anomalia cromosomica o genetica rilevata dal singolo esame genetico.

Si ricorda che:

- il ricorso allo screening preimpianto, legittima il medico/biologo, se necessario, ad iniettare tutti gli ovociti ottenuti (purché risultati idonei come da piano terapeutico concordato con la coppia);
- sarà necessario procedere al congelamento degli embrioni in attesa dell’esito della diagnosi genetica e al trasferimento differito;
- il numero di embrioni che subiranno la biopsia e l’analisi in oggetto non può essere concordato a priori perché dipendente dal numero di ovociti recuperati, dal numero di ovociti fecondati e dal numero di embrioni che giungerà alla formazione di blastocisti.

CONSENSO INFORMATO AL TEST GENETICO PREIMPIANTO PER ANEUPLOIDIE (PGT-A)

La PGT- A (Pre- Implantation Genetic Test- A) è una metodica diagnostica che si esegue sull’embrione prima del suo trasferimento in utero. Per le coppie ad aumentato rischio di trasmettere all’embrione alterazioni cromosomiche, la PGT- A, informa sullo stato di salute di ciascun embrione e permette di individuare quelli non affetti da anomalie cromosomiche prima del loro trasferimento in utero.

La tecnica della PGT-A è il risultato della combinazione di:

- fecondazione “in vitro” con iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo nella cellula uovo
- biopsia di cellule embrionali mediante micromanipolazione
- tecniche diagnostiche basate su metodiche molecolari specifiche

eseguite a favore di coppie per le quali sia indicata un’analisi cromosomica e nelle quali il test genetico PGT- A permetterà di identificare anomalie cromosomiche negli embrioni che presentano un normale numero di cromosomi (44 più due cromosomi sessuali).

INDICAZIONI AL PRELIEVO DI CELLULE EMBRIONALI PER L’IDENTIFICAZIONE DI ANOMALIE NUMERICHE DEL CARIOTIPO EMBRIONALE (PGT-A)

Il test delle anomalie cromosomiche (Pre- implantation Genetic Test - Aneuploidies PGT- A) è indicato, se richiesto dalla coppia stessa, quando siano presenti le seguenti condizioni che si associano a un aumentato rischio di sviluppare embrioni con anomalie numeriche dei cromosomi:

- Età riproduttiva avanzata della donna (generalmente definita come > 35 anni);
- Precedenti gravidanze con feto affetto da anomalie cromosomiche;
- Ripetuti aborti spontanei (definiti come > 2 aborti consecutivi);
- Ripetuti fallimenti d’impianto embrionale (RIF) durante precedenti cicli di fecondazione assistita (generalmente definiti come assenza d’impianto in seguito a trasferimento di almeno 6 embrioni in due o più trasferimenti di embrioni).

Per la prima e più frequente indicazione, è ben noto che con l’avanzare dell’età della donna aumentano progressivamente le anomalie numeriche dei cromosomi. La più nota, quanto anche la meno grave, è la sindrome di Down, o trisomia del cromosoma 21, che si osserva quando sono presenti 3 copie del cromosoma 21, invece che 2 come normalmente succede per tutti i cromosomi autosomici. Questa causa è alla base anche dell’indicazione alla diagnosi genetica prenatale (villocentesi o amniocentesi). Tuttavia, al momento dell’amniocentesi (15- 16 settimane di epoca gestazionale) il rischio di avere un feto affetto da anomalia cromosomica è relativamente basso, mediamente dell’ordine di grandezza di 1 a 200/300, proprio perché la maggior parte degli embrioni con anomalie cromosomiche esitano in fallimento di impianto o aborto nelle prime 12 settimane. Al contrario, le anomalie cromosomiche sono molto più frequenti nella fase di sviluppo dell’embrione prima dell’impianto, proprio perché in questi primi giorni di crescita dell’embrione è avvenuta solo una parziale selezione naturale. Le anomalie cromosomiche avvengono più frequentemente negli ovociti che negli spermatozoi e sono poi ereditate dall’embrione. Questo spiega il decadimento della capacità riproduttiva della donna che si osserva con l’avanzare dell’età e in maniera progressiva durante tutto il periodo riproduttivo e l’aumentato rischio di gravidanze con feti affetti da sindromi cromosomiche. In una donna di 40 anni, la probabilità che gli embrioni prodotti abbiano una anomalia cromosomica si attesta intorno al 70/80%. Anche quando gli embrioni sono prodotti in vitro, dopo accurata selezione morfologica degli ovociti, degli spermatozoi e degli embrioni fino allo stadio di blastocisti (5/7 giorni di sviluppo dopo la fecondazione), questo rischio rimane elevatissimo. Il trasferimento inconsapevole di questi embrioni affetti può, quindi, risultare in fallimento dell’impianto o in gravidanza che poi termina con un aborto o in una gravidanza in cui il feto è portatore di un’anomalia cromosomica alla nascita. Per quanto riguarda la poliabortività, è ben noto che circa i 2/3 degli

aborti spontanei sono dovuti a cause di anomalie cromosomiche insorte de novo nell'embrione e in assenza di evidenti patologie a carico della coppia. Questo fenomeno è tanto più marcato quando gli aborti si osservano nelle prime settimane di gravidanza. In questi casi, l'analisi permette di trasferire embrioni privi della maggior parte delle anomalie cromosomiche che determinano l'aborto, aumentando significativamente la percentuale di gravidanze che portano a una nascita.

Il ripetuto fallimento d'impianto può essere esso stesso conseguenza di un'umentata incidenza di anomalie cromosomiche che spiegano il mancato successo in precedenti cicli di PMA. Tassi elevati di embrioni con anomalie cromosomiche sono stati riportati in coppie che avevano eseguito un ciclo di screening preimpianto dopo precedenti tentativi falliti di fecondazione in vitro convenzionale (Fragouli et al., 2010). In questo caso l'analisi cromosomica degli embrioni permette sia di individuare quelli cromosomicamente normali per il trasferimento, aumentando le probabilità di gravidanza per trasferimento, sia di avere una valutazione di natura diagnostica sulle caratteristiche degli embrioni prodotti dalla specifica coppia.

PROCEDIMENTO

1. **Ottenimento di embrioni.** Si tratta di ottenere gli embrioni che saranno oggetto della diagnosi. Si devono produrre «in Vitro» mediante convenzionali tecniche di riproduzione assistita di secondo livello. Per eseguire la diagnosi sarà necessario, in particolare, ricorrere a un'iniezione intracitoplasmatica dei gameti (ICSI) al fine di ridurre il rischio di contaminazione del campione.
2. **Biopsia del trofoectoderma allo stadio di blastocisti (giorno 5 - 7).** In base alle evidenze scientifiche, il miglior stadio evolutivo sul quale è possibile fare un'analisi genetica preimpianto è rappresentato dalla blastocisti che si forma in quinta – settima giornata di sviluppo embrionale. Il prelievo di cellule in questa fase è potenzialmente molto utile alla diagnostica, poiché è possibile prelevare un discreto numero di cellule senza creare problemi allo sviluppo successivo dell'embrione che in questo stadio è cresciuto fino a 200/300 cellule. Inoltre, la biopsia è effettuata su cellule esclusivamente del trofoectoderma che daranno origine dopo l'impianto agli annessi placentari. La massa delle cellule interne (inner cell mass) che darà origine all'embrione nelle fasi successive all'impianto, non è coinvolta dalla biopsia, riducendo in questo modo potenziali rischi per lo sviluppo dell'embrione. La tecnica di prelievo (biopsia) consiste nel praticare un foro nella zona pellucida, parete che avvolge l'embrione fino allo stadio di blastocisti. L'apertura della zona pellucida è effettuata mediante l'azione di un raggio laser, di cui è stata comprovata la sicurezza sia in modelli animali che umani (Rienzi et al., 2001). Le cellule embrionali da utilizzare per la diagnosi sono prelevate mediante aspirazione con una pipetta da biopsia o provocando un'erniazione delle cellule del trofoectoderma all'esterno. Tali cellule vengono, quindi, poste all'interno di una provetta analitica per eseguire l'analisi genetica. Le blastocisti dopo biopsia vengono crioconservate. Uno studio condotto recentemente ha evidenziato che l'analisi allo stadio di blastocisti rappresenta oggi un gold standard per queste analisi nei centri specializzati in questa pratica (Capalbo et al., Human Reproduction 2013), principalmente per i seguenti importanti vantaggi:
 - Affidabilità dei risultati dell'analisi genetica;
 - Riduzione significativa del rischio di mosaicismo cromosomico;
 - Assenza di compromissione dello sviluppo embrionale dovuto dalla biopsia.
3. **Diagnosi genetica – PGT- A.** Dopo la biopsia, le cellule ottenute sono processate per l'analisi genetica. Quando il laboratorio riceve i campioni, li processa per l'analisi molecolare mediante sequenziamento massivo (NGS). Se il campione contiene materiale genetico insufficiente, sarà necessario sottoporre l'embrione ad una seconda biopsia, ove possibile, al fine di ottenere un risultato. In generale, gli embrioni anomali NON sono raccomandati per il trasferimento anche questo deve essere oggetto di dettagliata valutazione tra la coppia e lo specialista.
4. **Trasferimento embrionale.** Con il risultato dell'analisi molecolare, la coppia consultante è informata sul risultato dell'analisi molecolare dall'équipe medica ed è programmato il trasferimento in funzione anche delle caratteristiche di vitalità embrionale. Il trasferimento degli embrioni crioconservati dopo biopsia è eseguito, generalmente, nel ciclo seguente a quello in cui è avvenuto il prelievo ovocitario (o nel minor tempo possibile non appena le condizioni psicofisiche della donna lo permettano). Posticipare il trasferimento è necessario sia per motivi tecnici legati alle tempistiche dell'analisi molecolare sia per motivi clinici. La decisione di quando è più opportuno trasferire gli embrioni è soggetta, comunque, a valutazione finale del medico e in particolari casi può essere possibile il trasferimento degli embrioni in assenza di congelamento dopo la biopsia.

EFFICIENZA E VANTAGGI DELL'ANALISI DI ANOMALIE NUMERICHE DEL CARIOTIPO EMBRIONALE

Molti sforzi sono stati fatti negli ultimi 20 anni per sviluppare nuove tecnologie in grado di individuare le anomalie cromosomiche prima che l'embrione sia trasferito in utero durante i cicli di fecondazione assistita, dato che la maggior parte degli embrioni anomali non si distingue dagli embrioni normali quando si valuta la morfologia al microscopio nel laboratorio IVF. Pertanto, la morfologia normale dell'embrione non può essere considerata un indicatore di assenza di anomalie cromosomiche. È noto che TUTTE le coppie possono produrre embrioni anomali, nonostante esistano categorie a

maggior rischio di anomalie cromosomiche, come ad esempio le donne di età superiore ai 35 anni, le pazienti con un'anamnesi di aborto spontaneo ricorrente, con ripetuti fallimenti dell'impianto o che hanno avuto una gravidanza con un'anomalia cromosomica, o gli uomini con una bassa concentrazione di spermatozoi. Poiché il PGT- A rileva le copie in più o in meno di tutti i cromosomi o alterazioni cromosomiche strutturali di grandi dimensioni, gli embrioni con anomalie cromosomiche avranno una diagnosi pressoché certa sul loro outcome in caso di impianto. L'accuratezza di questo test è superiore al 98%, quindi il tasso di diagnosi errata per le anomalie cromosomiche analizzate è inferiore al 2%. La maggior parte degli embrioni con anomalie cromosomiche sono destinati a non impiantarsi o a dare aborti clinici principalmente nel primo trimestre gestazionale. L'efficacia dello screening preimpianto dipende, da un lato, dal numero di embrioni disponibili e dal loro grado di sviluppo e, dall'altro dal metodo diagnostico molecolare impiegato.

I risultati ottenuti in diversi studi clinici prospettici randomizzati dimostrano in modo consistente che il trasferimento di embrioni normali all'analisi cromosomica si traduce in aumento della probabilità d'impianto e sviluppo a termine del singolo embrione con una significativa diminuzione delle probabilità di aborto clinico (Forman et al., 2013; Scott et al., 2013). Dal Registro Europeo ESHRE (Desmyttere et al., Human Reproduction 2012), non è riportato un aumento delle anomalie alla nascita in relazione all'uso della tecnica di biopsia embrionale, dimostrando l'efficacia e sicurezza del procedimento.

1. **Aumento del tasso di impianto.** Essendo le anomalie cromosomiche le principali cause di fallimento di impianto in un ciclo IVF, il trasferimento di embrioni cromosomicamente normali, identificati grazie allo studio di PGT- A, si traduce in un significativo aumento del tasso di impianto come dimostrato da recenti studi randomizzati e meta- analisi della letteratura scientifica (Dahdouh et al, Fertility and Sterility, 2015).
2. **Riduzione del tasso di aborto spontaneo.** Nella popolazione generale, il 20% di tutte le gravidanze cliniche terminano in aborto e circa la metà sono cromosomicamente anomali. Queste percentuali di aborto sono strettamente correlate all'età riproduttiva della donna e possono raggiungere anche il 50- 60% nelle donne sopra i 40 anni. Di conseguenza, soprattutto nei gruppi ad alto rischio, il trasferimento di embrioni normali cromosomicamente dopo PGT- A permette di ridurre l'abortività in modo consistente come dimostrato da recenti studi randomizzati e meta- analisi della letteratura scientifica (Rubio et al, Fertility and Sterility, 2017; Chen et al, Plos One, 2015). Oggi queste metodiche rappresentano una strategia efficace per individuare le anomalie numeriche cromosomiche mediante l'analisi molecolare di un campione biotipico dell'embrione a uno stadio avanzato (blastocisti) in maniera non invasiva per le cellule dell'embrione. Dati presenti in letteratura suggeriscono che quando l'embrione cromosomicamente normale è trasferito allo stadio di blastocisti (fresco e/o dopo congelamento), la probabilità di impiantarsi aumenta di due/tre volte e la probabilità di aborto si riduce dal 30/40%, generalmente osservato in donne di 40 anni, a percentuali inferiori al 10% (Scott et al., 2013; Forman et al., 2012; Schoolcraft et al., 2010). Nella popolazione di pazienti che eseguono l'analisi, circa il 35% dei casi non ha embrioni normali da un punto di vista cromosomico in quello specifico ciclo. In questo caso la coppia può richiedere di non trasferire gli embrioni con anomalie cromosomiche, evitando di esporsi al rischio di aborto qualora giungano a un impianto. Inoltre, non utilizzare embrioni affetti da anomalie cromosomiche permette di evitare ripetuti trasferimenti di embrioni che non hanno possibilità di portare ad una gravidanza e le relative implicazioni psicologiche del fallimento del trattamento. Trovare tutti embrioni con anomalie cromosomiche non preclude la possibilità che ci siano embrioni non affetti da anomalie cromosomiche in un ciclo di fecondazione assistita successivo, permettendo così di accedere in tempi brevi, ove indicato, ad un nuovo ciclo di terapia (Pgidas et al., J Assist Reprod Genet. 2008). Considerato l'elevato tasso d'impianto degli embrioni dopo PGT- a, un altro possibile beneficio è la possibilità di trasferire un solo embrione anche in donne con età riproduttiva avanzata, evitando così gravidanze multiple e le severe complicanze ostetriche e neonatali ad esse associate. I nostri risultati pubblicati alla fine del 2019, mostrano che per le coppie con età femminile avanzata, la probabilità di gravidanza ad evoluzione favorevole ed il numero di gravidanze ad esito negativo erano statisticamente favorevoli in caso di esecuzione di test preimpianto, sebbene in un elevato numero di cicli il numero di ovociti e/o embrioni non consentissero di accedere a questa tecnica (Laura Sacchi, Elena Albani, Amalia Cesana, Antonella Smeraldi, Valentina Parini, Marco Fabiani, Maurizio Poli, Antonio Capalbo, Paolo Emanuele Levi- Setti Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy Improves Clinical, Gestational, and Neonatal Outcomes in Advanced Maternal Age Patients Without Compromising Cumulative Live-Birth Rate. Journal of Assisted Reproduction and Genetics).

POTENZIALI CRITICITÀ E LIMITI DELLA PTG-A

1. **Preparazione delle cellule.** Quando le cellule sono rimosse dall'embrione, sono trasferite in una provetta per l'analisi. È possibile che il materiale cellulare sia deteriorato (bassa qualità) e che quindi non possa essere amplificato con successo. In qualsiasi caso, NON sarà possibile ottenere i risultati del PGT-A per quell'embrione specifico.
2. **Trasporto.** Le cellule sono inviate per l'analisi genetica via corriere. Gli imprevisti durante il viaggio possono ritardare la ricezione del campione o, raramente, provocare danni al campione. È possibile, anche se poco probabile, che il campione si perda.

3. Limiti di rilevazione:

- Aneuploidie parziali. Il Next Generation Sequencing (NGS) è un test sviluppato per rilevare aneuploidie complete (alterazioni del numero dei cromosomi, ossia un numero maggiore o minore di cromosomi rispetto allo standard), può anche rilevare aneuploidie parziali, comprese delezioni e duplicazioni di parte di un cromosoma, a seconda della dimensione del segmento interessato. Il PGT- A tramite NGS non riesce normalmente a rilevare perdite o aggiunte di segmenti di cromosoma inferiori a 10 MB.
- Altri difetti o anomalie genetiche dello sviluppo non identificabili con PGT- A. Il rischio di difetti alla nascita è del 3-5% nella popolazione generale e può essere dovuto ad altre cause genetiche o non genetiche, ma non necessariamente alle alterazioni del numero di cromosomi. Tutte le anomalie non oggetto del test cromosomico di PGT-A spiegato in questo consenso non sono ovviamente coperte dall'analisi.
- Anomalie strutturali bilanciate. Il PGT- A riesce ad identificare solo anomalie strutturali sbilanciate, ovvero dove la perdita o la duplicazione di un cromosoma o parte di un cromosoma non è compensata da un'altra anomalia di tipologia opposta (anomalia bilanciata).
- Malattie monogeniche. Non tutte le anomalie genetiche sono dovute ad anomalie cromosomiche. Ad esempio, per individuare la presenza di disturbi di singoli geni, come la fibrosi cistica, l'anemia falciforme o l'emofilia, si devono realizzare i test per rilevare la variazione del gene familiare specifico (mutazione). Tutte le alterazioni genetiche familiari conosciute devono essere discusse con il medico curante.
- Disomia uniparentale (UPD). È la presenza di due copie di un cromosoma dello stesso partner ed è associata a sindromi genetiche mediche, cognitive o disabilità. Tale anomalia non può identificare l'UPD tramite PGT-A.
- Ploidia. le tecniche di PGT- A non consentono di individuare le anomalie cromosomiche definite come aploidia, triploidia o tetraploidia, che consistono nell'alterazione di tutto l'insieme dei cromosomi, con la presenza di una, tre o quattro copie di ognuno dei cromosomi contenuti in una cellula. Questo tipo di alterazioni cromosomiche, che non è possibile identificare, potrebbe portare ad aborti spontanei, ma la sua incidenza negli embrioni umani preimpianto è inferiore all'1%. In aggiunta al test PGT- A standard di primo livello, in cui si analizza il numero di copie di ciascun cromosoma dell'embrione, è possibile eseguire un test PGT- A di secondo livello per rilevare anche alterazioni della ploidia sulla stessa biopsia embrionale. Per alterazioni di ploidia si intendono variazioni del numero di assetti cromosomici rispetto al normale 2N (46 cromosomi totali, 2 copie di ciascun cromosoma, una di origine materna e una di origine paterna). Le variazioni del numero di assetti cromosomici possono essere: aploidia 1N (una singola copia di ciascun cromosoma per un totale di 23 cromosomi) o poliploidia (triploidia 3N, tetraploidia 4N). Il test PGT- A in NGS non è in grado di definire lo stato di ploidia degli embrioni a causa della normalizzazione durante l'analisi bioinformatica dei dati. Contrariamente a quanto succede in una normale fecondazione dove sono presenti due pronuclei 2PN (maschile e femminile) di uguali dimensioni, in un numero ridotto di casi (in circa il 5%), gli ovociti possono presentare un quadro atipico di fecondazione, caratterizzato dalla presenza di un singolo pronucleo (1PN) o di pronuclei di diverse dimensioni (2.1PN). Gli embrioni derivanti da ovociti con fecondazione anomala sono generalmente esclusi dal successivo utilizzo in quanto presentano rischio aumentato di anomalie cromosomiche di diverso genere, in particolare triploidie e tetraploidie (presenza di 69 e 92 cromosomi rispettivamente invece di 46). Qualora vengano trasferiti inconsapevolmente embrioni con triploidia e tetraploidia, questi embrioni esiteranno in aborto clinico poiché incompatibili con la vita. Nella letteratura attuale (Capalbo et al. 2017) sono riportati molti casi di gravidanze a termine con cariotipo normale, derivate da embrioni originati da ovociti con fecondazione atipica. Il test di ploidia permette di includere nella coorte di embrioni utilizzabili per il ciclo di PMA anche embrioni originati da ovociti con fecondazione atipica, ma con una configurazione diploide (46 cromosomi), altrimenti esclusi dall'impiego clinico.
- Malattie multifattoriali. Si verificano a causa di una combinazione di influenze genetiche ed ambientali. Possono comparire come difetti fisici alla nascita, ad esempio alterazioni cardiache, che non sono correlate ad anomalie cromosomiche. Attualmente, il monitoraggio in gravidanza di queste malattie multifattoriali, come l'autismo, la schizofrenia e il diabete, non è possibile poiché la causa esatta non è nota. Per questi motivi, si consiglia un esteso monitoraggio ecografico e clinico della gravidanza, in particolare in presenza di specifici fattori di aumentato rischio.
- Mosaicismo. È un fenomeno per cui nel medesimo organismo si ha la presenza contemporanea di cellule con cariotipi differenti. Un embrione a mosaico diploide/aneuploide presenta, quindi, una combinazione di cellule con cariotipo normale e altre con cariotipo aneuploide e può risultare in gravidanze normali come patologiche. In altri casi il mosaicismo può definirsi mosaico/aneuploide quando tutte le cellule che compongono l'embrione sono anomale anche se con cariotipi differenti. Il mosaicismo avviene casualmente e spontaneamente durante lo sviluppo embrionale. Durante il processo di divisione cellulare, i cromosomi potrebbero non essere distribuiti equamente nelle cellule embrionali, dando luogo a cellule con un numero alterato di cromosomi. Per la valutazione dei livelli di mosaicismo il laboratorio Igenomix Italia ha identificato un cut- off del livello di aneuploidia intorno al 50% con

considerazioni cromosoma- specifiche. Le biopsie del trofoectoderma sono riportate come euploidi se presentano un livello di aneuploidia inferiore a questo cut- off per tutti i cromosomi; al contrario, sono riportate come aneuploidi se presentano un livello di aneuploidia superiore a questo cut- off per almeno un cromosoma o un segmento cromosomico (Capalbo et al., Am J Hum Genet. 2021).

- Errori nella diagnosi.** Esiste una probabilità dell'1- 2% di errore di precisione a causa della presenza di falsi positivi, ossia embrioni normali che possono essere riportati come anomali, e/o falsi negativi, ossia embrioni anomali che possono essere diagnosticati come normali. Ciò può essere dovuto a problemi come il mosaicismo, nel quale le cellule possono non essere rappresentative dell'intero embrione o, come per tutte le metodiche diagnostiche, per la natura imperfetta della diagnosi. Il falso positivo può essere stimato da studi controllati intorno al 1- 2% (Capalbo et al., European Journal of Human Genetics, 2015) mentre il falso negativo (rischio di trasferire un embrione cromosomicamente anomalo) è stato stimato essere inferiore allo 0,2% in gravidanze cliniche con follow- up (Werner et al., Fertility and Sterility, 2014). Il tasso di errore della diagnosi preimpianto non è in questo momento noto, di conseguenza nel caso di una gravidanza deve essere comunque considerata e consigliata un'analisi citogenetica prenatale per stabilire il cariotipo fetale. L'obiettivo dell'analisi è di individuare aneuploidie che comportino la perdita o la duplicazione di grandi pezzi di cromosomi o cromosomi interi. Anomalie cromosomiche che coinvolgono pezzi più piccoli potrebbero non essere rilevate. Inoltre alcuni casi di mosaicismo cromosomico possono passare inosservati.
- Assenza di diagnosi conclusiva.** È possibile non ottenere il risultato di un embrione. Il rischio di non ottenere alcun risultato è inferiore al 2%. I motivi più comuni sono l'assenza di cellule nella provetta o materiale genetico di bassa qualità (comune in cellule danneggiate o morte). A causa di difetti nel campione, è possibile che il modello statistico utilizzato per determinare il numero di cromosomi non consenta l'ottenimento di un risultato; in questo caso i risultati saranno segnalati come non conclusivi. Alcune coppie scelgono di trasferire gli embrioni senza alcun risultato. I benefici associati al PGT- A non si applicano a questi embrioni. In alternativa e in accordo con il centro di PMA referente, gli embrioni senza diagnosi possono essere biopsizzati nuovamente e processati per analisi cromosomica.
- Possibilità di contaminazione.** È possibile che nel corso della fase analitica possano verificarsi contaminazioni di materiale genetico che falsino l'analisi molecolare. Tuttavia con le moderne tecnologie e con la buona pratica laboratoristica questo rischio è stimato essere inferiore all'1% dei casi in base ai dati riportati dal registro europeo di PGD (Harper et al., Human Reproduction 2008).

CONSAPEVOLI ED INFORMATI SU:

- esecuzione e/o controllo dei test di PGT- A per i quali l'Humanitas Fertility Center si potrà avvalere di strutture esterne Nazionali o Internazionali certificate per l'attività diagnostica in questo settore specifico. In caso di esecuzione dei test presso strutture esterne l'Humanitas Fertility Center è responsabile esclusivamente dello sviluppo di embrioni mediante tecniche di PMA e non ha alcuna responsabilità circa l'operato del Laboratorio di Diagnosi molecolare che effettua i test genetici effettuati sulle cellule
- eventuale Struttura Certificata quale sede esterna di esecuzione dell'esame
- vantaggi e limitazioni della procedura come sopra riportate potrebbero subire variazioni, in relazione all'evoluzione scientifica di questa tipologia di analisi, delle quali lo specialista del Fertility Center ci darà informazione
- trasporto del materiale da analizzare presso sede esterna tramite un vettore specializzato e che tale trasporto non è totalmente privo di rischi per i quali Humanitas Fertility Center non si assume la responsabilità in caso di perdita e/o deterioramento dei campioni durante il trasporto
- costi della prestazione, a totale carico della coppia
- alternative alla tecnica PGT- A, come l'esecuzione della IVF senza PGT- A seguita, eventualmente, da diagnosi prenatale
- distruzione del DNA residuo dell'analisi PGT- A dopo 36 mesi dalla conclusione della gravidanza, per l'esecuzione di eventuali test di conferma della diagnosi, oppure donazione a fini di ricerca, in caso di consenso liberamente espresso di seguito dalla coppia
- interruzione della procedura in qualunque momento della sua realizzazione, sia per motivi medici che su richiesta dei pazienti, purché ciò non comporti alcun danno agli stessi o agli embrioni vitali prodotti
- disponibilità del personale sanitario del Fertility Center ad approfondire qualunque aspetto delle informazioni che non sia sufficientemente chiaro
- possibilità da parte della donna di richiedere il trasferimento anche in presenza di un'anomalia cromosomica embrionale dopo consulenza con gli specialisti del Fertility Center e firma di uno specifico consenso

Sezione H

Stante quanto sopra riportato,

DICHIARIAMO:

- che la nostra richiesta di sottoporci alla tecnica di PMA segue alle informazioni ottenute durante i colloqui sostenuti con i sanitari;
- di aver ricevuto informazioni esaurienti riguardo a:
 - tipologia di procedura proposta, tempi e modalità di esecuzione;
 - benefici attesi, possibilità di successo e di insuccesso della procedura proposta;
 - potenziali complicanze (immediate e/o a distanza) correlate alla procedura o al nostro caso specifico, in relazione alla presenza di patologie concomitanti;
 - opzioni terapeutiche alternative al trattamento proposto con relativi benefici, rischi e complicanze;
 - conseguenze sulla vita sociale e lavorativa che potrebbero verificarsi a seguito del trattamento e relativi tempi e modalità di recupero;
 - possibili esiti clinici in caso di rifiuto del trattamento proposto;
- che i sanitari hanno soddisfatto le nostre domande e chiarito i dubbi riguardo alla procedura che stiamo per affrontare;
- di aver compreso le indicazioni della tecnica prevista nel nostro caso specifico;
- di essere consapevoli dei rischi, anche psicologici, correlati ad un programma di PMA e delle possibili alternative, compresa la rinuncia a ricercare una gravidanza;
- di essere consapevoli di poter richiedere un'attività ulteriore di consulenza al fine di supportare le decisioni che sono state espresse; a tal fine Humanitas Fertility Center è in grado di assicurare un supporto e/o una consulenza psicologica dedicata come previsto dalla normativa;
- di essere consapevoli che durante il trattamento l'équipe sarà disponibile a rispondere alle nostre domande e a prendere in considerazione i nostri problemi.
- rispetto alla destinazione del DNA residuo dall'esecuzione dei test genetici (PGT- A, PGT- SR, PGT- M) dopo 36 mesi dalla conclusione della gravidanza (nascita) la nostra volontà di:

SI donare il DNA residuo a fini di ricerca

NO richiederne la distruzione al termine del periodo previsto

DICHIARIAMO, INOLTRE:

- di essere una coppia costituita da componenti di sesso diverso e maggiorenni, di essere coniugati e/o conviventi ed entrambi viventi al momento di iniziare il procedimento terapeutico;
- di aver eseguito tutti gli accertamenti preliminari richiesti e di aver fornito all'équipe medica tutte le informazioni indicative di un possibile aumento di rischio;
- di aver valutato tutte le clausole riportate nel presente consenso;
- di riconoscere il nascituro quale figlio legittimo o naturale, impegnandoci, pertanto, in modo irrevocabile al riconoscimento congiunto e a rinunciare ad ogni possibile futuro disconoscimento di paternità/maternità.

CONFERMIAMO, QUINDI, DI:

- aver letto e discusso con il medico tutte le informazioni contenute nel presente Consenso;
- avere avuto la possibilità di fare domande sul trattamento proposto e che il medico si è reso/a disponibile per eventuali ulteriori chiarimenti;
- sapere che ove si rendessero necessarie modifiche rispetto a quanto già discusso, dovremo manifestare un nuovo consenso al trattamento;
- essere stati informati della possibilità che ciascuno di noi, anche separatamente, ha la possibilità di revocare il consenso al trattamento **solo fino a prima della fecondazione dell'ovulo.**

Consapevoli di quanto sopra riportato e della non eseguibilità della procedura di Procreazione Medicalmente Assistita proposta prima di sette giorni dalla data di rilascio del presente Consenso:

ESPRIMIAMO LA NOSTRA VOLONTÀ AD

ACCONSENTIRE

NON ACCONSENIRE

di essere sottoposti a un ciclo di **ICSI (Iniezione intracitoplasmatica)** con **TEST GENETICO PRE-IMPIANTO PER ANEUPLOIDIE (PGT-A)**

Rozzano, li

Firma della paziente

Firma del paziente

Eventuale interprete

(copia documento d'identità)

NB: a tutela della particolare consapevolezza che deve essere garantita agli aspiranti genitori, ai sensi dell'art. 6- comma III- L. 40/2004, Humanitas garantisce un periodo di 7 (sette) giorni decorrenti dalla manifestazione della volontà fino l'applicazione della tecnica di PMA entro cui i richiedenti possono liberamente revocare il loro consenso, senza alcuna conseguenza sul piano giuridico. In particolare, il trattamento non avrà inizio prima del decorso del suddetto periodo. Invitiamo, inoltre, la coppia a prendere visione del testo completo della legge n. 40/2004 pubblicata sulla Gazzetta Ufficiale del 24 febbraio 2004, del decreto Ministeriale del 11 luglio 2015 "Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita, e del testo della sentenza n.151 della Corte Costituzionale dell'8 maggio 2009.

Lo specialista Ostetrico-Ginecologo del Fertility Center

.....

Il Direttore del Fertility Center o suo delegato

Prof. Paolo Emanuele Levi-Setti o suo delegato

Il presente documento di consenso informato, in conformità al DM 265/2016, è stato personalmente redatto dal Direttore del Fertility Center e approvato dalla Direzione dell'Istituto Clinico Humanitas.

Una volta sottoscritto dai richiedenti e dal medico che gestisce il colloquio, il presente documento è sottoposto, insieme alla documentazione clinica, al vaglio del Direttore del Fertility Center. Quest'ultimo, nell'esercizio della sua responsabilità in vigilando, verifica la sussistenza dei necessari presupposti e sottoscrive a sua volta il documento. Copia del documento firmato è messa a disposizione dei richiedenti in occasione della visita successiva o dell'inizio della terapia presso l'Istituto Clinico Humanitas.

Si ricorda che il Direttore del Fertility Center ha la facoltà di non procedere alla procreazione medicalmente assistita, esclusivamente per motivi di ordine medico-sanitario, rendendo in tal caso ai richiedenti motivazione scritta di tale decisione.