

Yardımcı Üreme Teknikleri Kullanılarak Gebelik Elde Edilen Hastalarda Serum Kisspeptin Düzeyinin Erken Gebelik Sonuçlarını Öngörmedeki Rolü

The Role of Serum Kisspeptin Levels in Predicting Early Pregnancy Outcomes in Patients Who Achieved Pregnancy Using Assisted Reproductive Techniques

^{1b} Gökçe AYKANAT^a, ^{1b} Aslı AKDÖNER^b, ^{1b} Onur YAVUZ^b, ^{1b} Erkan ÇAĞLIYAN^b,
^{1b} Ali Rıza ŞİŞMAN^c, ^{1b} Recep Emre OKYAY^b

^aYerköy Devlet Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Yozgat, Türkiye
^bDokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, İzmir, Türkiye
^cDokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, İzmir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Abortus, ilk trimester gebeliklerinin en sık görülen komplikasyonudur ve gelişen embriyonun sitogenetik anormalliği, bozulmuş implantasyon ve plasentasyon ile ilişkilidir. Günümüzde abortus riskini doğru bir şekilde öngören güvenilir bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Kisspeptinler, KISS1 geni tarafından kodlanan bir peptid ailesidir. Kisspeptin, insanlarda gebelik boyunca plasentada yüksek oranda ekspres edilir. Çalışmamızda, yardımcı üreme teknikleri kullanılarak gebelik elde edilen 18-40 yaş arası olgularda, kisspeptin düzeylerinin gebelik sonuçlarını öngörmedeki yerinin belirlenmesi ve abortusu öngörmede biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nde dahil olma kriterlerine uyan 28 gönüllü olgu ile gerçekleştirilmiştir. Olgulardan, kontrollü ovaryen stimülasyona başlanmadan önce (KISS1), embriyo transfer günü (KISS2) ve embriyo transferinden 14 gün sonra (KISS3) olmak üzere toplam 3 kez venöz kan örneği alınarak kisspeptin düzeyi belirlenmiş ve kisspeptin düzeyleri ile gebelik sonuçları karşılaştırılmıştır. **Bulgular:** Canlı doğum yapan olgularda, kisspeptin ölçüm ortalamalarının anlamlı seviyede değiştiği ($\chi^2=11.44$, $p=0.003$), bu grupta ilk ölçümden ikinci ölçüme ($p=0.043$), ilk ölçümden üçüncü ölçüme ($p=0.010$) ve ikinci ölçümden üçüncü ölçüme ($p=0.006$) kisspeptin değerlerinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Ayrıca canlı doğum yapan olguların β -hCG ($p=0.049$) ve KISS3 ($p=0.002$) değerlerinin ortalamalarının canlı doğum yapmayan olguların ortalamalarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Canlı doğum yapmayan olguların ilk ölçümden üçüncü ölçüme kisspeptin değerlerinin anlamlı derecede azaldığı ($p=0.017$) saptanmıştır. Olguların β -hCG değerleri ile KISS3 değerleri arasında anlamlı derecede pozitif yönde ilişki olduğu ($r=0.405$, $p=0.032$), KISS3 değerlerinin, canlı doğum yapma olasılığını anlamlı seviyede 1.05 kat artırdığı ($p=0.009$ OR=1.05 [%95 CI 1.01-1.09]) saptanmıştır. **Sonuç:** IVF tedavisi sırasında bakılan kisspeptin düzey artışının ve KISS-3 değerinin canlı doğum ile sonuçlanan olgularla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kisspeptin; abortus; yardımcı üreme teknikleri

ABSTRACT

Objective: Abortion is the most common complication of first trimester pregnancies and is associated with cytogenetic abnormality of the developing embryo, impaired implantation and placentation. Currently, there is no reliable biomarker that accurately predicts the risk of abortion. Kisspeptins are a family of peptides encoded by the KISS1 gene. Kisspeptin is highly expressed in the placenta throughout pregnancy in humans. In our study, it was aimed to determine the role of kisspeptin levels in predicting pregnancy outcomes and to determine whether it can be used as a biomarker in predicting abortion in cases aged 18-40 years who achieved pregnancy using assisted reproductive techniques. **Materials and Methods:** The study was carried out at Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital IVF Center with 28 volunteers who met the inclusion criteria. Before starting controlled ovarian stimulation (KISS1), on the day of embryo transfer (KISS2) and 14 days after embryo transfer (KISS3), a total of 3 venous blood samples were taken from the cases, and kisspeptin levels were determined. These kisspeptin levels were compared with pregnancy results. **Results:** It was observed that kisspeptin measurement averages in live births changed significantly ($\chi^2=11.44$, $p=0.003$), from the first measurement to the second measurement ($p=0.043$), from the first measurement to the third measurement ($p=0.010$), and from the second measurement to the third measurement ($p=0.006$) kisspeptin values were found to increase significantly. In addition, it was found that the average β -hCG ($p=0.049$) and KISS3 ($p=0.002$) values of the cases who had a live birth were higher than the averages of the cases who did not have a live birth. It was determined that kisspeptin values of the cases who did not give birth decreased significantly from the first measurement to the third measurement ($p=0.017$). There was a significant positive correlation between β -hCG values and KISS3 values of the cases ($r=0.405$, $p=0.032$), and KISS3 values significantly increased the probability of live birth 1.05 times ($p=0.009$ OR=1.05 [%95 CI 1.01-1.09]) was determined. **Conclusion:** As a result, it has been shown that the increase in kisspeptin levels during IVF treatment and the KISS-3 value are associated with cases resulting in live birth.

Keywords: Kisspeptin; abortion; assisted reproductive techniques

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:

Aykanat G, Akdöner A, Yavuz O, Çağlıyan E, Şişman AR, Okyay RE. Yardımcı Üreme Teknikleri Kullanılarak Gebelik Elde Edilen Hastalarda Serum Kisspeptin Düzeyinin Erken Gebelik Sonuçlarını Öngörmedeki Rolü. Türk Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Dergisi. 2024;8(1):12-20.

Correspondence: Gökçe AYKANAT

Yerköy Devlet Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Yozgat, Türkiye

E-mail: gokceaykanat@hotmail.com



Peer review under responsibility of Turkish Journal of Reproductive Medicine and Surgery.

Received: 21 Aug 2023

Received in revised form: 15 Jan 2024

Accepted: 12 Feb 2024

Available online: 19 Feb 2024

2587-0084 / Copyright © 2024 by Reproductive Medicine, Surgical Education, Research and Practice Foundation.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Abortus, gebeliğin ilk trimesterinde görülen en sık komplikasyondur.¹ Tüm gebeliklerin yaklaşık %15-25' i abortus ile sonuçlanmaktadır. İn vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi ile gebe kalanlarda da abortus önemli komplikasyonlardan biridir ve spontan gebeliklerde görülenlerle benzer oranda görülmektedir.²

Kisspeptinler, Kiss-1 olarak isimlendirilen gen tarafından transkribe edilen öncül bir proteinden türeyen farklı aminoasit uzunluklarındaki peptidlerdir. Bu peptidler, Kiss1R (GPR54) olarak bilinen reseptörler aracılığı ile hipotalamo-hipofizer-gonadal aks üzerinden ovulasyonda, fertilitede ve pubertede önemli etki göstermektedirler.³ Yapılan çalışmalarda gebelik boyunca periferik dolaşımdaki kisspeptin düzeyinin artmakta olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, son trimesterdeki kisspeptin düzeyinin, gebe olmayan kadınlara göre 7000 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.^{4,5} Kisspeptin, insanlarda gebelik boyunca plasentada yüksek oranda eksprese edilmektedir ve olası bir plasentasyon belirtisi olarak düşünülmektedir. Ayrıca, kisspeptin, gebelik komplikasyonlarını öngörmede de yeni bir belirteç olarak potansiyel öneme sahiptir.⁶⁻⁸

Günümüzde halen, abortus riskini doğru bir şekilde belirleyen güvenilir bir biyobelirteç yoktur. β -hCG en yaygın kullanılan gebelik biyobelirteçidir; ancak erken gebelikte β -hCG düzeylerindeki değişiklik nedeniyle tek bir ölçümün abortus tanısında değeri sınırlıdır.⁹ Rong Li ve ark.nın 2021 yılında yayınladığı bir makalede serum kisspeptin düzeyinin, β -hCG 'ye ek olarak abortus tanısı için umut verici bir biyobelirteç olabileceği belirtilmiştir ve ilk trimesterin geç gebelik haftalarında, β -hCG 'den daha üstün prediktif değere sahip olduğu gösterilmiştir.¹⁰

Çalışmamızda, IVF/ICSI tedavisi sonrası gebelik elde edilen kadınlarda, bazal dönem, embriyo transfer günü ve β -hCG pozitifliği sonrası serum kisspeptin düzeylerindeki değişim değerlendirilmiştir. Çalışmamızın amacı, kisspeptin düzeylerinin, gebelik sonuçlarını ve abortus riskini öngörmedeki etkinliğinin gösterilmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HASTA SEÇİMİ

Çalışma, Ekim 2020-Eylül 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Sağlığı ve İnfertilite Bölümü ve Tüp Bebek Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul'undan gerekli onaylar alınmıştır (26.10.2020 tarih ve 5708-GOA protokol numaralı, 2020/26-63 No'lu karar). Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve tüm hastaların yazılı onamları alınmıştır. Çalışmamız, Helsinki Deklarasyonu 2008 prensiplerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri

- 18-40 yaş aralığındaki kadınlar
- Menstrüel siklusun 2-3. gününde bakılan FSH değerinin <12 olması
- Vücut kitle indeksinin (VKİ) 18-30 aralığında olması
- Yapılacak transvajinal ultrason (TV-USG) muayenesinde pelvik patolojinin olmaması

Çalışmadan Dışlama Kriterleri

- Eşlik eden medikal hastalık öyküsü (hiperprolaktinemi, tiroid bozuklukları, diabetes mellitus)
- Son 3 ay içerisinde endokrin sistem üzerine etki etme ihtimali olan ilaç kullanımı
- Menstrüel siklusun 2-3. gününde yapılan bazal TV-USG muayenesinde overlerde >10 mm folikül izlenmesi
- Menstrüel siklusun 2-3. gününde yapılan bazal TV-USG muayenesinde her 2 overde toplam antral folikül sayısının ≤ 4 olması

Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan toplam 118 hastaya IVF/ICSI tedavisi başlanmıştır. IVF/ICSI tedavisi sonrası gebelik tespit edilmeyen 90 hasta çalışmadan çıkarılmıştır. Hastaların 28 tanesinde tedavi sonucunda gebelik tespit edilmiştir ve bu 28 hastaya ait veriler analiz edilmiştir. Olgulardan menstrual siklusun ilk 4 günü içinde alınan serum kisspeptin düzeyi KISS-1 (bazal), embriyo transfer günü alınan serum kisspeptin düzeyi KISS-2 ve embriyo transferinden 14 gün sonra alınan serum kisspeptin düzeyi KISS-3 olarak adlandırılmıştır.

ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Menstrüel siklusun 2-4. gününde tüm gönüllülerden serum folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve östradiol düzeyleri test edilmiş ve kaydedilmiştir. Aynı zamanda olgulardan bazal kisspeptin düzeyinin belirlenmesi amacıyla eş zamanlı venöz kan örnekleri alınarak usulüne uygun olarak saklanmıştır.

Çalışmaya katılma kriterlerine uyan ve kontrollü ovaryen stimülasyon (KOS) başlanması için herhangi bir engeli olmayan taze siklus planlanan hastalara menstrüel siklusun 2-4. gününde rekombinant FSH ve/veya human menopozal gonadotropin (HMG) başlanmıştır. Başlangıçta ve KOS monitörizasyonu sırasında kullanılan gonadotropin dozları hasta bazlı bireyselleştirilmiş protokollerle 150-300 ünite dozlar aralığında verilmiştir. Gönüllüler belirli günlerde kontrole çağrılarak doz ayarlaması yapılmıştır. Stimülasyon protokolüne yanıt alınamayan veya embriyo elde edilemeyerek transferi yapılamayan olgular çalışmadan çıkartılmıştır. Yapılan TV-USG takiplerinde 13 mm boyutlarına ulaşan folikül oluştuğunda, LH pikinin önlenmesi amacıyla ovulasyon tetikleme yapılana kadar GnRH antagonisti verilmiştir. Ovulasyon tetikleme için GnRH agonisti veya rekombinant hCG (rec-hCG) kullanılmıştır. Ovulasyon tetiklemesinden 34-36 saat sonra TV-USG eşliğinde oosit toplama işlemi yapılmıştır. Olgular arasında şiddetli erkek faktör veya daha önce fertilizasyon başarısızlığı olanlar hariç IVF işlemi uygulanmıştır. Elde edilen embriyolar kültür ortamında klivaj evresine [2. gün embriyosu (D2) veya 3. gün embriyosu (D3)] ya da blastokist (D5) aşamasına kadar takip edilmiştir. Gelişen embriyoların kalite açısından morfolojik değerlendirilmesinin yapılmasının ardından, olguların yaşı ve daha önce geçirilmiş IVF denemeleri varlığına göre bir veya iki adet embriyo transabdominal ultrasonografi (TA-USG) eşliğinde katater yardımı ile transfer edilmiştir.

Çalışmaya katılma kriterlerine uyan vitrifiye *frozen-thaw* siklus planlanan hastalara, menstrüel siklusun 2-4. gününde, oral 2 mg östradiol hemihidrat günde 3 kez olacak şekilde (günlük total 6 mg) başlanmıştır. Takiplerinde endometrium kalınlığı 7 mm'nin üzerinde ölçülen hastalarda tedaviye 200 mg vajinal mikronize progesteron (günde 3 kez, günlük

total doz 600 mg) eklenmiştir. Her iki ilaç da embriyo transfer gününe kadar kullanılmıştır.

Tüm olgulardan, bazal (menstrüel siklusun ilk 4 günü), embriyo transfer günü ve embriyo transferinden 14 gün sonra olmak üzere toplam 3 defa brakial venler aracılığı ile 10 cc venöz kan, sarı kapaklı biyokimya tüplerine alınmıştır. Alınan kan örnekleri, 3000 rpm devirde 15 dakika santrifüj edilerek santrifüj sonrası üstte kalan serum örnekleri biyokimyasal ölçümler için eppendorf tüplerine konularak analiz yapılana kadar -80° C'de saklanmıştır. Saklanan örneklerde Human KISS-1(Kisspeptin) (*Katalog no: E-EL-H6099 Elabscience*) seviyeleri, 'enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)' yöntemi ile üretici önerilerine göre ölçülmüştür. Human KISS-1 ELISA kitinin sensitivitesi 18.75 pg/mL idi. ELISA kitinin temini sponsor tarafından değil yazarlar tarafından sağlanmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmaya dahil edilmesi planlanan olgu grubu hasta sayısı G-Power 3.1.9.2 programında tekrarlayan ölçüm karşılaştırılmasına yönelik F testi seçilerek düşük etki büyüklüğü (0.25), α : 0,05 ve güç: %80 olması durumunda en az 28 hasta olarak bulunmuştur. Araştırmada değerlendirilen olguların klinik ve demografik özellikleri sayı, yüzde, ortalama, standart sapma ve ortanca gibi betimleyici istatistiksel analizlerle değerlendirilmiştir. Canlı doğum yapan ve yapmayan olgular arasında yaş, VKİ, FSH, LH, E2, kisspeptin değer ortalamaları Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Canlı doğum yapan olgularda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değişimi Friedman testi ile, ölçümler arası ikili karşılaştırmalar ise Wilcoxon testine göre yapılmıştır. Buna ek olarak, gebelik kaybı olan olgular arasında kisspeptin ölçüm ortalamalarının değişimi ölçümler arası ikili karşılaştırmalar ise Wilcoxon testine göre yapılmıştır. Tüm analizler için anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak belirlenmiştir. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS 22.0 programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Olguların yaşlarının ve vücut kitle indekslerinin (VKİ) ortalama değerleri sırasıyla 31,57±4,69 ve

24,04±2,96 (kg/m²) olarak saptanmıştır. Olguların bazal kisspeptin, embriyo transfer günü bakılan KISS2 ve embriyo transferinden 14 gün sonra bakılan KISS3 değerlerinin ortalamaları sırasıyla 57,83±40,55 (pg/ml), 57,86±26,91 (pg/ml) ve 70,04±38,69 (pg/ml) olarak değişiklik göstermiştir. Ek olarak ölçülen β -hCG değerlerinin ortalaması ise 2150,75±2131,48 (IU/ml) olarak bulunmuştur. Olguların klinik ve demografik özellikleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Olguların infertilite nedenleri arasında en sık görülen endometriozis %21,4 oranında, en az görülen azalmış over rezervi ise %7,1 oranında izlenmiştir. Olguların 11’ine (%39,3) fresh siklus transferi ve 17’sine (%60,7) frozen-thaw siklus transferi yapılmıştır. Olguların 13’ünde (%46,4) blastokist transferi yapılırken, diğerlerine klivaj evresinde embriyo transferi (ET) yapılmış olup, sadece bir olguda ikinci gün embriyosu (D2) transfer edilmiştir. Olguların infertilite nedenleri ve siklus karakteristikleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Yirmi sekiz olgunun gebelik sonuçlarına bakıldığında 2 (%7,1) olguda biyokimyasal gebelik, 3 (%10,7) olguda ektopik gebelik saptanmıştır. Olguların 23’ünde (%82,1) ise klinik gebelik izlenmiştir. Klinik gebelik izlenen 23 olgunun 3’ünde çoğul gebelik saptanmıştır. Bu 23 olgunun 5’inde (%17,8) spontan abortus gerçekleşmiştir, abort eden 5 olgunun 1 tanesi iki embriyo transferi yapıp iki ayrı monokoryonik gebelik elde edilen dördüz gebeliktir ve 19. haftada dört bebeğin de spontan abortusu gerçekleşmiştir. Olguların 18’inin (%64,2) gebeliği canlı doğum ile sonuçlanmış, 10’unun (%35,8) gebeliği ektopik gebelik, biyokimyasal gebelik ve spontan abortuslar nedeni ile canlı doğum ile sonuçlanmıştır. Canlı doğum yapan olguların 14’ü (%50) sezaryen ile doğum gerçekleştirmiştir.

Canlı doğum yapan olguların median β -hCG (p=0,049) ve KISS3 (p=0,002) değerlerinin, canlı doğum yapmayanlara göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte her iki grupta yaş, BMI, FSH, LH, E2, KISS1 ve KISS2 median değerlerinde istatistiksel açıdan fark olmadığı bulunmuştur. Canlı doğum yapan ve yapamayan olguların klinik ve demografik özellikleri ile serum kisspeptin

TABLO 1: Olguların demografik ve klinik özelliklerinin ortalamaları.

	Ortalama±SS	Minimum-Maksimum
Yaş (yıl)	31,57±4,69	23,00-39,00
VKI (kg/m ²)	24,04±2,96	19,00-29,00
FSH (IU/ml)	8,1±2,3	3,7-12,0
LH (IU/ml)	5,67±3,82	1,20-22,0
E2 (pg/ml)	45,89±15,38	22,00-80,0
KISS1 (pg/ml)	57,83±40,55	14,67-227,31
KISS2 (pg/ml)	57,86±26,91	18,59-161,14
KISS3 (pg/ml)	70,04±38,69	16,80-137,97
β -hCG (IU/ml)	2150,75±2131,48	65,00-7702,00
Max. Endometrium Kalınlığı (EK) (mm) (ET günü)	13,18±1,86	8,40-16,0

SS: Standart Sapma.

TABLO 2: infertilite nedenleri ve siklus karakteristikleri.

		N(%)
İnfertilite nedeni	Açıklanamayan infertilite	5(17,9)
	Erkek faktör	5(17,9)
	Azalmış over rezervi	2(7,1)
	Endometriozis	6(21,4)
	Anovulasyon	4(14,3)
	Tubal faktör	3(10,7)
	Multiple faktör	3(10,7)
Embriyo transfer günü	D2	1(3,6)
	D3	14(50)
	D5	13(46,4)
Siklus	Taze siklus	11(39,3)
	Frozen-Thaw siklus	17(60,7)

ile β -hCG değerlerinin karşılaştırmaları Tablo 3 ve 4’de gösterilmiştir.

Spearman korelasyon analizi ile olguların β -hCG değerleri ile KISS3 değerleri arasındaki ilişki incelenmiş ve her iki değer arasında anlamlı olarak pozitif yönde bir ilişki olduğu (r=0,405, p=0,032) tespit edilmiştir (Tablo 5).

Canlı doğum yapan olguların ve canlı doğum yapmayan olguların üç ölçüm için ortalama kisspeptin düzeylerindeki değişimleri Şekil 1A’da verilmiştir.

Canlı doğum yapan olgularda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değiştiği ($\chi^2=11,44$, p=0,003) bulunmuştur. İlk ölçümden ikinci ölçüme (a-b) (p=0,043), ilk ölçümden üçüncü ölçüme (a-c) (p=0,010) ve ikinci ölçümden

TABLO 3: Canlı doğum yapan ve yapamayan olguların klinik ve demografik özelliklerinin karşılaştırılması.

	Canlı doğum yok (n=10)		Canlı doğum var (n=18)		p ^a
	Ortanca	Q25-Q75	Ortanca	Q25-Q75	
Yaş (yıl)	35,00	30,00-37,00	30,00	27,00-35,00	0,112
VKİ (kg/m ²)	25,00	22,00-27,00	23,00	21,00-26,00	0,546
FSH (IU/ml)	8,70	5,0-10,0	8,00	7,20-9,80	0,886
LH (IU/ml)	5,05	4,70-7,10	4,60	3,00-6,00	0,337
E2 (pg/ml)	44,50	34,00-52,00	39,90	35,00-60,00	0,829

p^a: Mann Whitney U testi sonucu.**TABLO 4:** Canlı doğum yapan ve yapamayan olguların serum kisspeptin ile β -hCG değerlerinin karşılaştırılması.

	Canlı doğum yok (n=10)		Canlı doğum var (n=18)		p ^a
	Ortanca	Q25-Q75	Ortanca	Q25-Q75	
KISS1 (pg/ml)	65,43	34,89-77,13	43,26	35,94-54,24	0,187
KISS2 (pg/ml)	54,07	44,99-58,64	56,94	42,91-65,99	0,549
KISS3 (pg/ml)	33,64	27,13-56,27	91,26	62,66-108,89	0,002
β -hCG (IU/ml)	675,50	323,00-1261,00	2036,00	954,00-3442,00	0,049

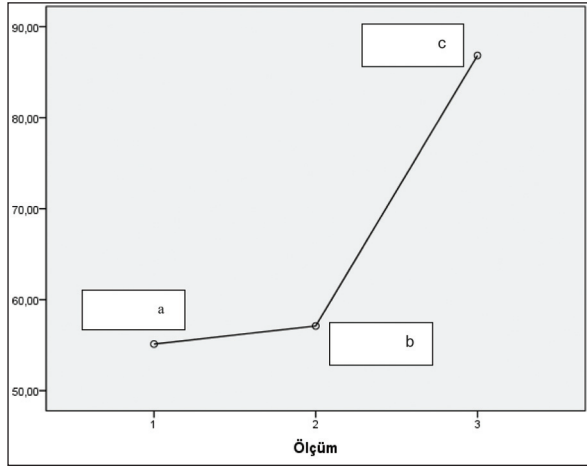
p^a: Mann Whitney U testi sonucu.**TABLO 5:** Olguların demografik ve klinik özellikleri arasındaki ilişki.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1-Yaş	r									
	p									
2- β -hCG	r	-,098								
	p	,621								
3-FSH	r	-,092	-,300							
	p	,642	,121							
4-LH	r	-,283	,109	,260						
	p	,144	,582	,181						
5-E2	r	,308	,099	,490	,159					
	p	,110	,615	,008	,418					
6KISS1	r	-,207	-,209	,192	,159	,081				
	p	,291	,286	,328	,419	,684				
7-KISS2	r	-,230	,229	-,012	,218	-,154	-,015			
	p	,240	,241	,951	,264	,434	,939			
8-KISS3	r	-,145	,405*	-,042	-,048	,062	-,088	,080		
	p	,462	,032	,830	,808	,752	,657	,685		
9-Max. EK (ET günü)	r	,003	-,144	-,002	-,106	,117	,095	-,081	,113	
	p	,989	,465	,990	,590	,552	,632	,680	,568	
10-VKİ	r	,218	-,365	-,021	-,195	-,159	-,075	-,207	-,103	,068
	p	,265	,056	,916	,320	,419	,706	,289	,600	,732

TABLO 6: Kisspeptin ölçümlerinin canlı doğum yapma olasılığını arttırmakla ilişkili tek değişkenli lojistik regresyon analizi.

	B	S.E.	Wald	df	p	Odds Ratio	%95 CI
KISS1 (pg/ml)	-0,005	0,01	0,22	1	0,63	0,99	0,97-1,01
KISS2 (pg/ml)	-0,003	0,01	0,04	1	0,83	0,99	0,96-1,02
KISS3 (pg/ml)	0,05	0,01	6,87	1	0,009	1,05	1,01-1,09

Nagelkerke R²=0,00 (KISS1 ve KISS2), Nagelkerke R²=0,48 (KISS3)



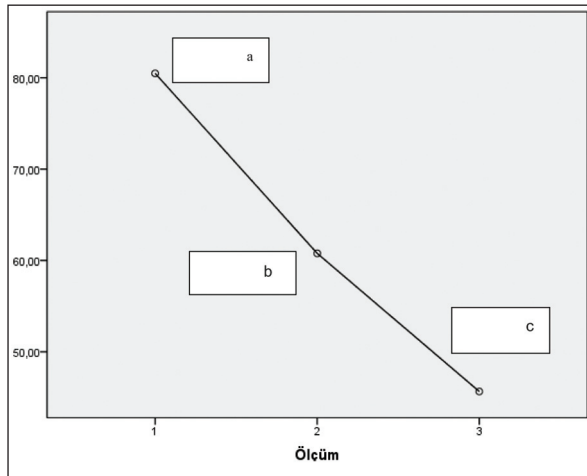
ŞEKİL 1A: Canlı doğum yapan ve yapmayan olgularda kisspeptin ortalamalarının değişimi.

Canlı Doğum Yapan Olgular

Friedman Testi $p < 0,05$ anlamlı

Sonuç: $\chi^2=11,44$, $p=0,003$

İkili karşılaştırmalar (Wilcoxon Testi); a-b: ($p=0,043$), a-c: ($p=0,010$), b-c: ($p=0,006$).



ŞEKİL 1B: Canlı doğum yapan ve yapmayan olgularda kisspeptin ortalamalarının değişimi.

Canlı Doğum Yapmayan Olgular

Friedman Testi $p < 0,05$ anlamlı

Sonuç: $\chi^2=2,60$, $p=0,273$

İkili karşılaştırmalar (Wilcoxon Testi); a-b: ($p=0,575$), a-c: ($p=0,017$), b-c: ($p=0,333$).

üçüncü ölçüme (a-c) ($p=0,006$) kisspeptin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (Şekil 1A).

Canlı doğum yapmayan olgularda kisspeptin düzeylerinin ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı seviyede değişmediği ($\chi^2=2,60$, $p=0,273$) bulunmuştur. İlk ölçümden üçüncü ölçüme (a-c) kisspeptin de-

ğerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı ($p=0,017$) ve ek olarak diğer ölçümler arasında anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır (Şekil 1B).

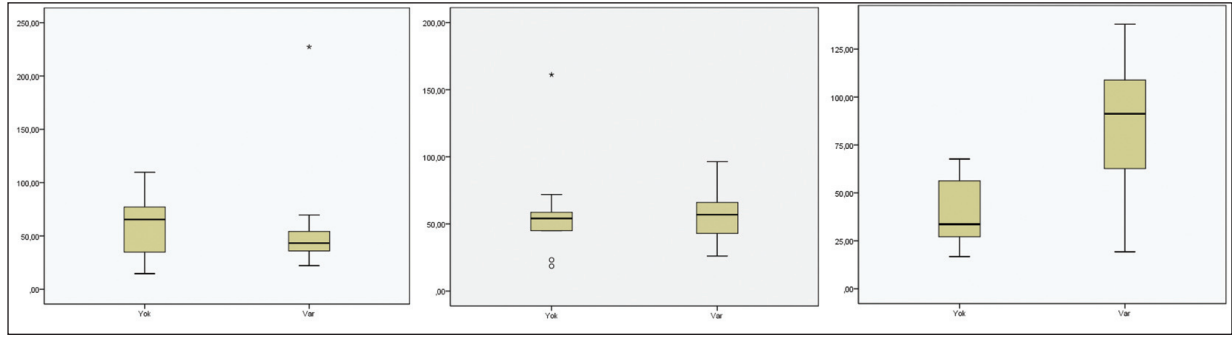
Canlı doğum yapan ve canlı doğum yapmayan olgular arasında sırasıyla KISS-1, KISS-2 ve KISS-3 değerlerinin karşılaştırılması kutu grafiği ile sırasıyla Şekil 2A, B, C'de gösterilmiştir.

Kisspeptin ölçümlerinin canlı doğum ile tek değişkenli regresyon analizi ile bağımsız ilişkisi Tablo 6'da gösterilmiştir. KISS1 ve KISS2 değerlerinin canlı doğum ile bağımsız ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı değilken, embriyo transferinden 14 gün sonra bakılan KISS3 değerinin canlı doğum ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur ($p=0,009$ OR=1,05 [%95 CI 1,01-1,09]).

TARTIŞMA

Klinik olarak tespit edilen tüm gebeliklerin %12-15'i, 4 ile 20. gebelik haftaları arasında spontan olarak kaybedilmektedir. Bu oran klinik olarak tespit edilmiş gizli erken kayıplarla beraber yaklaşık 2-4 kat artmaktadır.¹¹ Abortus, sıklıkla gelişen embriyonun düzensiz desidualizasyonu, implantasyonu ve plasentasyonu gibi sitogenetik anormallikler ile ilişkili olarak gerçekleşmektedir.^{12,13} *In vitro* fertilizasyon veya ICSI ile gebelik elde edilen hastalarda, erken gebelik döneminde abortus veya ektopik gebelik gibi olumsuz sonuçlarla gebeliğin sonlanması çiftleri son derece olumsuz etkilemektedir. β -hCG, gebelikte en yaygın kullanılan belirteçtir ancak tek bir ölçümü gebelik kaybı tanısında sınırlı bir değere sahiptir.¹⁴

Kisspeptinler, *KISS1* geni tarafından kodlanan ve G proteini ile kenetlenmiş 'kisspeptin reseptörüne' bağlanan bir peptid ailesidir. Sinsityotrofoblastlarda eksprese edilir ve reseptörü hem sitotrofoblastlarda hem de sinsityotrofoblastlarda bulunur.¹⁵ Trofoblastlar tarafından üretildiğinden ve blastokist transferinden 5 gün sonra trofoblast invazyonu devam ettiğinden, implantasyon periyodundaki serum kisspeptin konsantrasyonları, gebelik sonucu ile ilişkili erken gelişimsel olayları yansıtabilir.¹⁶ *KISS1* geninin plasental ekspresyonu, özellikle plasentasyon zamanına denk gelen ilk trimesterde yüksektir.¹⁷ Kisspeptin, varsayılan bir plasentasyon belirteci olarak ortaya çıkmıştır ve gebelik komplikasyonlarının



ŞEKİL 2: Canlı doğum yapan ve canlı doğum yapmayan vakalar arasında KISS-1, KISS-2, KISS-3 bazal değeri karşılaştırması.

yeni bir belirteci olarak potansiyeli değerlendirilmelidir.⁷ Literatür değerlendirildiğinde, IVF ile gebelik elde edilen hastalarda, hastaların bazal kisspeptin değerleri ve kisspeptinin seri ölçümleri ile gebelik sonuçlarını inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamız bu açıdan literatüre katkı sağlamayı amaçlamıştır.

Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda yapılan bir çalışmada, hem trofoblastlarda hem de desüdata *KISS1* düzeylerinin, elektif abortus olan sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir.¹⁸ Benzer olarak Colak ve ark.⁷'nin yaptığı prospektif vaka kontrol çalışmasında, erken gebelik kaybı yaşayan kadınlarda plasental *KISS1* düzeyi, elektif terminasyon yapılan gruba göre anlamlı ölçüde düşük saptanmıştır ve *KISS1*'in gebeliğin implantasyonunda görev aldığı sonucu desteklenmiştir.¹⁹ Ayrıca, son yıllarda serum kisspeptin düzeylerinin erken haftalarda abortus için belirteç olarak kullanımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Sullivan-Pyke ve ark.⁷'nin çalışmasında, serum kisspeptin ve hCG düzeylerinin gebelik için karşılaştırılabilir tanısal değerlere sahip olduğu ve kisspeptin düzeylerinin erken gebelik canlılığı için yeni bir belirteç olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir.²⁰ Benzer şekilde Jayasena ve ark.²¹'nin yaptığı kohort çalışmasında da kisspeptinin erken gebelik kaybı için β -hCG'den daha yüksek bir tanısal performansa sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca tek bir serum kisspeptin ölçümünün, 6 hafta ve daha büyük gebeliklerde, düşük riski artmış asemptomatik gebe kadınları tanımlamak için plasenta fonksiyonunu temsil eden yeni bir unsur olduğu öne sürülmüştür.²¹ Bizim çalışmamızda da bu görüşü destekler şekilde, embriyo transferinden 14 gün sonra erken gebelik

döneminde ölçülen kisspeptin ve β -hCG değerlerinin her ikisi de canlı doğum yapmayan olgularda, canlı doğum yapanlara göre anlamlı olarak daha düşük düzeyde bulunmuştur. Ek olarak canlı doğum yapmayan olgularda, KISS-1 ölçümünden KISS-3 ölçümüne ortalama değerlerin azaldığı bulunmuştur.

Intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanan kadınlarda yapılan iki çalışmada, serum kisspeptin seviyeleri değerlendirilmiş ve düşük kisspeptin düzeyleri implantasyon başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir.^{22,23} Erkek faktör infertilitesi ile açıklanamayan infertil çiftler karşılaştırıldığında, açıklanamayan grupta serum kisspeptin seviyeleri ve ICSI'yi takiben implantasyon oranları daha düşük bulunmuştur.²² ICSI yapılan 176 hastanın dahil edildiği diğer bir çalışmada ise, ovulasyonun tetiklenmesinden önce ölçülen serum kisspeptin seviyeleri, embriyo transferini takiben klinik gebelik elde edilemeyen kadınlarda, gebelik oluşana göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.²³ Çalışmamızda, implantasyonda görev aldığı düşünülen kisspeptin düzeyinin canlı doğum yapan hastalarda tedavi öncesi, embriyo transfer günü ve transferden 14 gün sonraki ölçümlerde anlamlı seviyede yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0,003$). Çalışmamızın verilerine göre IVF tedavisi esnasında serum kisspeptin seviyelerindeki artışlar, implante olan embriyo/embriyoların canlı doğum ile sonuçlanmasını ön görmeye umut vericidir.

Prospektif bir vaka kontrol çalışmasında intrauterin gebeliği olan kadınlarda tek başına ve/veya β -hCG seviyeleri ile kombinasyon halinde serum kisspeptin düzeyleri incelenmiştir. Gebeliği abortusla sonuçlanan kadınlarda serum kisspeptin düzeyleri

daha düşük bulunmuş ve artan gebelik haftası ile kisspeptinin abortusu belirlemedeki performansı artarken β -hCG'nin performansının azaldığı gösterilmiştir.²⁴ Bizim çalışmamızda ise gebeliği canlı doğum ile sonuçlanmayan olgularda serum kisspeptin değerleri seri ölçümlerde giderek azalmış fakat bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna karşın, kisspeptinin bazal değerleri ile transferden 14 gün sonra bakılan değerler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarına göre IVF tedavisi esnasında serum kisspeptin değerlerinin seri ölçümlerindeki azalma, canlı doğumla sonuçlanmayacak olguları ön görmeye kısmen yardımcı olabilir.

Bir diğer çalışmada donma-çözme sikluslarında embriyo transferinden 14 ve 21 gün sonra kisspeptin değerleri ölçülüp karşılaştırılmış ve serum kisspeptin değerinin artan gebelik yaşı ile korele olarak arttığı ancak erken gebelik döneminde bu artışın çok yavaş olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada, erken gebelik döneminde kisspeptin değerinin β -hCG'ye kıyasla abortus için düşük bir prediktif değere sahip olduğu bulunmuştur.²⁵ Benzer şekilde Rong Li ve ark.nın 2021 yılında yayınladığı bir makalede serum kisspeptin düzeyinin, β -hCG 'ye ek olarak abortus tanısı için umut verici bir biyobelirteç olduğu ve ilk trimesterin geç gebelik haftalarında kisspeptinin prediktif değerinin β -hCG'den daha üstün olduğu söylenmiştir.¹⁰

2023 yılında yayınlanan bir çalışmada ise frozen embriyo transferinden 14, 21 ve 28 gün sonra serum kisspeptin ve β -hCG değerleri ölçülmüştür ve transferden sonra 21. ve 28. günlerdeki kisspeptin düzeyleri, β -hCG düzeyleriyle karşılaştırıldığında abortus için düşük prediktif değere sahip bulunmuştur. Transfer sonrası 14. günde bakılan kisspeptin düzeyleri ise anlamlı bulunmamıştır.²⁶ Sonuç olarak, serum kisspeptin değerinin abortusu ön görmeye etkisi olabilse de bu etkinin daha çok birinci trimesterin geç gebelik haftalarında olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda erken gebelik döneminde seri kisspeptin ölçümleri yapılmamış olsa da β -hCG ile aynı gün ölçülen kisspeptin değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede pozitif yönde bir ilişki olduğu ($r=0,405$, $p=0,032$) ve bu kisspeptin değerinin canlı doğum ile anlamlı derecede ilişkili olduğu

bulunmuştur ($p=0,009$ OR=1,051). Çalışmamız, IVF tedavisi esnasında bakılan kisspeptin değer artışının ve KISS-3 değerinin canlı doğum ile pozitif yönde ilişkili olduğunu gösteren literatürdeki ilk ve tek çalışmadır.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri, örneklem boyutunun küçük olmasıdır. Ek olarak IVF/ICSI planlanan hem *taze* hem de *frozen-thaw* siklus hastalarının çalışmaya dahil edilmesi ve olguların infertilite nedenlerinin dağılımının homojen olmamasıdır. Çalışmamızın güçlü yanları ise bir prospektif kohort çalışma olarak, uygun power analiziyle, IVF/ICSI tedavisi esnasında seri kisspeptin ölçümlerinin yapılması ve olguların tüm gebelik sürecinde takip edilerek canlı doğum sonuçları ile karşılaştırma yapılabildiği olmasıdır. Bu şekilde çalışmamız, kisspeptin düzeylerinin canlı doğumu öngörmeye katkısını araştıran literatürdeki ilk çalışmadır.

In vitro fertilizasyon planlanan infertil hastalar gebe kalabilme umuduyla son derece stresli ve uzun tedavi süreçleri geçirirler. IVF tedavisinin başarısını yansıtan en önemli sonuç canlı doğum oranıdır. Gebelik elde edilen hem infertil hem fertil hastalarda, erken gebelik döneminde gebeliğin abortus ile sonlanması son derece yıpratıcı bir durumdur. Canlı doğum ile sonuçlanan sağlıklı gebelik oranlarını arttırmak için sürekli yeni çalışmalar yapılmaktadır. *In vitro* fertilizasyon tedavisi esnasında serum kisspeptin düzeyinin seri ölçümlerini yaptığımız prospektif kohort çalışmamız, IVF tedavisi esnasında ölçülen kisspeptin değer artışının canlı doğumu öngörebilmesi hakkında bilgi vermektedir.

SONUÇ

Kisspeptin düzeylerinin erken ve geç gebelik dönemlerinde eşik değerlerinin ve artış hızının belirlenmesi açısından daha geniş serili randomize kontrollü prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyesi veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Gökçe Aykanat, Recep Emre Okyay; **Tasarım:** Gökçe Aykanat, Recep Emre Okyay, Ali Rıza Şişman; **Denetleme/Danışmanlık:** Recep Emre Okyay, Gökçe Aykanat; **Veri**

Toplama ve/veya İşleme: Aslı Akdöner, Onur Yavuz, Erkan Çağlıyan, Gökçe Aykanat; **Analiz ve/veya Yorum:** Aslı Akdöner, Onur Yavuz, Erkan Çağlıyan, Gökçe Aykanat; **Kaynak Taraması:** Gökçe Aykanat, Recep Emre Okyay, Aslı Akdöner; **Makalenin Yazımı:** Gökçe Aykanat, Aslı Akdöner, Onur Yavuz, Recep Emre Okyay; **Eleştirel İnceleme:** Aslı Akdöner, Recep Emre Okyay, Erkan Çağlıyan, Gökçe Aykanat; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Recep Emre Okyay, Ali Rıza Şişman, Gökçe Aykanat; **Malzemeler:** Gökçe Aykanat, Recep Emre Okyay, Ali Rıza Şişman.

KAYNAKLAR

- Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 1989;44(2):147-9. [Crossref]
- Kamal Sunkara S, Khalaf Y, Maheshwari A, Seed P, Coomarasamy A. Association between response to ovarian stimulation and miscarriage following IVF: an analysis of 124 351 IVF pregnancies. *Hum Reprod.* 2014;29(6):1218-24. [Crossref] [PubMed]
- Jayasena CN, Comninou AN, Nijher GMK, Abbara A, De Silva A, Veldhuis JD, et al. Twice-daily subcutaneous injection of kisspeptin-54 does not abolish menstrual cyclicity in healthy female volunteers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(11):4464-74. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, et al. Dramatic elevation of plasma metastin concentrations in human pregnancy: metastin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):914-9. [Crossref] [PubMed]
- Dhillon WS, Savage P, Murphy KG, Chaudhri OB, Patterson M, Nijher GM, et al. Plasma kisspeptin is raised in patients with gestational trophoblastic neoplasia and falls during treatment. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291(5):E878-84. [Crossref] [PubMed]
- Cartwright JE, Williams PJ. Altered placental expression of kisspeptin and its receptor in pre-eclampsia. *J Endocrinol.* 2012;214(1):79-85. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Savaris RF. Kisspeptin as a biomarker for miscarriage: let's wait! *Fertil Steril.* 2018;109(1):67. [Crossref] [PubMed]
- Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, et al. Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduction? *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2018;49(4):1259-76. [Crossref] [PubMed]
- Preisler J, Kopeika J, Ismail L, Vathanan V, Farren J, Abdallah Y, et al. Defining safe criteria to diagnose miscarriage: prospective observational multicentre study. *BMJ.* 2015;351:h4579. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Li R, Hu KL. Kisspeptin, a promising biomarker for miscarriage in early pregnancy. *Fertil Steril.* 2021;116(3):672-3. [Crossref] [PubMed]
- Taylor H, Pal L SE. Speroff. *Klinik Jinekoloji Endokrinoloji ve Infertilite. Güneş Tıp Kitabevleri.* 2020. p. 1175.
- Ilekis JV, Tsilou E, Fisher S, Abrahams VM, Soares MJ, Cross JC, et al. Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(1 Suppl):S1-S46. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Christiansen OB, Steffensen R, Nielsen HS, Varming K. Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. *Gynecol Obstet Invest.* 2008;66(4):257-67. [Crossref] [PubMed]
- Memtsa M, Jurkovic D, Jauniaux E; Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Diagnostic Biomarkers for Predicting Adverse Early Pregnancy Outcomes: Scientific Impact Paper No. 58. *BJOG.* 2019;126(3):e107-e13. [Crossref] [PubMed]
- Wu S, Zhang H, Tian J, Liu L, Dong Y, Mao T. Expression of kisspeptin/GPR54 and PIBF/PR in the first trimester trophoblast and decidua of women with recurrent spontaneous abortion. *Pathol Res Pract.* 2014;210(1):47-54. [Crossref] [PubMed]
- Hu KL, Chang HM, Zhao HC, Yu Y, Li R, Qiao J. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum Reprod Update.* 2019;25(3):326-43. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 8):1319-28. [Crossref] [PubMed]
- Li L, Tian J, Zhou L, Wu S, Zhang S, Qi L, et al. Role of kisspeptin/GPR54 in the first trimester trophoblast of women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Int J Clin Exp Pathol.* 2017;10(8):8161-73.
- Colak E, Ozcimen EE, Erinaç OH, Tohma YA, Ceran MU. Is placental KISS-1 expression associated with first trimester abortion spontaneous? *Obstet Gynecol Sci.* 2020;63(4):490-6. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Sullivan-Pyke C, Haisenleder DJ, Senapati S, Nicolais O, Eisenberg E, Sammel MD, et al. Kisspeptin as a new serum biomarker to discriminate miscarriage from viable intrauterine pregnancy. *Fertil Steril.* 2018;109(1):137-41.e2. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Jayasena CN, Abbara A, Izzzi-Engbeaya C, Comninou AN, Harvey RA, Gonzalez Maffe J, et al. Reduced levels of plasma kisspeptin during the antenatal booking visit are associated with increased risk of miscarriage. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(12):E2652-60. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Mumtaz A, Khalid A, Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Rehman R. Kisspeptin: A potential factor for unexplained infertility and impaired embryo implantation. *Int J Fertil Steril.* 2017;11(2):99-104.
- Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Alam F, Rehman R. Kisspeptin and embryo implantation after ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2017;34(2):147-53. [Crossref] [PubMed]
- Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):747-55. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Hu K-L, Zhang Y, Yang Z, Zhao H, Xu H, Yu Y, et al. Predictive value of serum kisspeptin concentration at 14 and 21 days after frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Biomed Online.* 2019;39(1):161-7. [Crossref] [PubMed]
- Li H, Zhang W, Sun X. A prospective study to evaluate whether serum kisspeptin is a marker predictive of the first-trimester miscarriage of women who conceive in IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2024;41(1):79-85. [Crossref] [PubMed]