

مقاله پژوهشی

بررسی همراهی پلی مورفیسم ACVR2A rs1424941 با بیماری پره اکلامپسی در بیماران ایرانی

عسل هنرپور^۱، احمد مجد^{۲*}، رضا میرفخرایی^۳، مریم رحیمی^۴، سید حمید جمال الدینی^۵

^۱ دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۲ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

^۳ استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۴ استادیار، مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

^۵ استادیار، گروه زنان و زایمان دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): Ahmad_majd2005@yahoo.com

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۳

چکیده

پره اکلامپسی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مرتبط با دوران بارداری در انسان است که با فشار خون بالا همراه است، به عنوان یکی از دلایل اصلی مرگ و میر جنینی و مادری محسوب می‌گردد. این بیماری در همه نژادها رخ می‌دهد و فقط مختص دوران بارداری است و پس از زایمان بهبود می‌یابد. در این مطالعه نقش پلی مورفیسم rs1424941 ژن ACVR2A را در استعداد ابتلا به بیماری پره اکلامپسی مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا از ۴۰۰ نمونه خون محیطی افراد مبتلا به بیماری پره اکلامپسی و افراد سالم استخراج DNA انجام شد و جهت تعیین ژنوتیپ از روش TP-ARMS-PCR استفاده شد. نتایج آنالیز همراهی نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوت rs1424941 (A/G) با افزایش خطر پره اکلامپسی همراه بود ($P=0.04$). مطالعه حاضر برای اولین بار همراهی پلی مورفیسم ACVR2A rs1424941 با بیماری پره اکلامپسی در جمعیت ایران تایید کرد. با این حال، مطالعات مشابه در قومیت‌های مختلف برای تایید همراهی rs1424941 با پره اکلامپسی ضروری است.

کلیدواژه‌ها: پره اکلامپسی، ACVR2A، پلی مورفیسم، rs1424941.

مقدمه

کننده زندگی است که با افزایش میزان مرگ و میر جنین و مادر در سراسر جهان مرتبط است [۱، ۶، ۷]. این بیماری در همه نژادهای رخ می‌دهد و در حدود ۵ درصد از بارداری‌ها را شامل می‌شود [۸]. پره اکلامپسی بر اساس شدت به گروه‌های زیر درجه بندی می‌شود: پره اکلامپسی شدید، پره اکلامپسی خفیف و اکلامپسی [۲، ۴]. علائم بالینی در سه ماهه دوم بارداری ظاهر می‌شود [۹]. تجزیه و تحلیل گسترده ژنومی شجره نامه‌های پره اکلامپسی،

پره اکلامپسی (PE) یک اختلال شایع بارداری در انسان است. یک بیماری چند عاملی است که تحت تأثیر عوامل پیچیده محیطی و ژنتیکی قرار می‌گیرد [۱]. به طور کلی می‌توان آن را فشار خون بالا (فشار خون سیستولیک/دیاستولیک $\leq 90/140$) و پروتئینوری نوظهور (بیش از ۳۰۰ میلی گرم در ۲۴ ساعت) پس از ۲۰ هفته بارداری تعریف کرد [۲-۵] PE یک عارضه تهدید

چندین جایگاه مادری را روی کروموزوم ۲ به عنوان ژن‌های کاندید نشان داده است [۱۰] که مهم ترین آنها ژن گیرنده اکتیوین A نوع ۲ (ACVR2A) است [۱۰].

ACVR2A گیرنده اکتیوین A نوع ۲ را رمز می‌کند و واسطه عملکرد اینهیپین A، اکتیوین A، اکتیوین B و میوستاتین است. به عنوان یک ژن کاندید احتمالی، ACVR2A یک پروتئین سیگنال دهنده سلولی است که به عنوان یک تنظیم کننده مهم عملکرد تولید مثل شناخته می‌شود [۱۱، ۱۲]. اکتیوین A متعلق به ابرخانواده TGF- β است که یک شاخص بیولوژیکی شناخته شده PE است. سطح بالای اکتیوین A در سرم زنان پره اکلامپسی ثابت شده است [۱۲]. ACVR2A از طریق تأثیر آن بر دسیدوالیزاسیون، تهاجم تروفوبلاست و جفت در ایجاد بارداری ایفای نقش دارد [۱۳]. اولین شواهد در مورد ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ACVR2A و PE توسط Moses و همکاران گزارش شد که ارتباط قوی با rs1424954 نشان دادند [۱۰]. از آن زمان، چندین مطالعه در جمعیت‌های مختلف انجام شده است که در آنها نتایج متناقضی به دست آمده است [۷، ۱۱، ۱۴]. بنابراین، در این مطالعه ارتباط واریانت ACVR2A rs1424941 را با PE در بیماران ایرانی مورد بررسی قرار گرفت. این اولین مطالعه ای است که نقش پلی مورفیسم ACVR2A در پاتوژنز PE در جمعیت ایران مورد بررسی قرار داد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها

تعداد ۴۰۰ زن باردار شامل ۲۰۰ زن سالم (به عنوان گروه شاهد) و ۲۰۰ بیمار پره اکلامپسی (به عنوان گروه مورد) در این مطالعه مورد - شاهی شرکت کردند. از هر فرد نمونه خون محیطی به منظور تعیین ژنوتیپ گرفته شد. تمامی شرکت‌کنندگان از

بیمارستان اکبر آبادی تهران جمع اوری شدند. بیماران PE فشار خون سیستولیک/دیاستولیک در حالت استراحت $\geq 140/90$ همراه با پروتئینوری بعد از هفته ۲۰ بارداری داشتند. افراد سالم هیچ سابقه PE خانوادگی نداشتند. افراد دارای سابقه فامیلی فشار خون بالا، بیماران کلیوی از این مطالعه کنار گذاشته شدند. این مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (IR.SBMU.MSP.REC.1401.166) قرار گرفت. همه افراد شرکت کننده در این مطالعه قبل از هر آزمایش رضایت نامه کتبی آگاهانه را امضا کردند.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

DNA با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی شرکت انا سل (AnaCell، ایران) از نمونه‌های خون محیطی استخراج شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. TP-ARMS- PCR. برای تعیین ژنوتیپ ژن ACVR2A پلی مورفیسم rs1424941 استفاده شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار آنالین Primer1 (<http://primer1.soton.ac.uk/primer>) طراحی شدند. توالی پرایمرها برای تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم ACVR2 rs1424941 در جدول ۱ ارائه شده است.

برای پلی مورفیسم rs1424941، مخلوط واکنش 20 میکرولیتری PCR شامل ۱ میکرولیتر نمونه DNA (≥ 100) نانوگرم، ۱/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (10Pmol)، 12 میکرولیتر مستر میکس شرکت امپلیکون Taq DNA Polymerase 2X Master Mix RED (amplicon، korea) و 1 μ L آب تزریقی استفاده شد و PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf، Germany) انجام شد. برنامه ترموسایکلر شامل ۱ چرخه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ چرخه شامل، دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه

جدول ۱: توالی‌های پرایمر مورد استفاده شده برای ژنوتیپ rs1424941:

پلی مورفیسم	پرایمر	توالی پرایمر	سایز
rs1424941	FI	TGGTTGGTTTAAATTGTGCTAAAA	199 (A allele)
	RI	GTTACATTGTGAAGATCATAGTATGTCCC	295 (G allele)
	FO	TATGAATGTTTTAAATCACAAAGCACA	439
	RO	GTAGAGGTTTCCTGAGGGAATAGATAAA	

پلی مورفیسم انتخابی و خطر PE با نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) محاسبه شد. مقدار $p < 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران PE و افراد کنترل در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که انتظار می رفت، مقادیر فشار خون سیستولیک و دیاستولیک در بیماران PE در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی بالاتر بود ($P < 0.0001$). شاخص توده بدنی (BMI) نیز در بیماران مبتلا به PE به طور قابل توجهی بالاتر از زنان باردار سالم بود ($P < 0.0001$). علاوه بر این، وزن جنین هنگام تولد و سن حاملگی در هنگام زایمان در بیماران در مقایسه با افراد کنترل کمتر بود ($P < 0.0001$). فراوانی ژنوتیپ برای rs1424941 در جدول ۳ ارائه شده است.

نتایج حاصل، ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ هتروزیگوت (A/G) و خطر ابتلا به بیماری PE در نمونه های مورد مطالعه نشان داد. ($OR = 1.57$ (1.02–2.04)، $p\text{-value} = 0.04$ ؛ شکل ۱ الگوی الکتروفورز ژل و تعیین توالی ها را نشان می دهد که بیانگر ژنوتیپ های مختلف rs1424941 است. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک نشان داد که rs1424941 در جایگاه اتصال فاکتور رونویسی قرار دارد. طبق سایت HaploReg rs1424941 یک نوع واریانت اینترونیک است و میل ترکیبی فاکتور رونویسی ZEB1 به موتیف آن در توالی ACVR2A را تقریباً ۲۱ برابر تغییر می دهد [۱۵].

سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۵۰ ثانیه و برای مرحله نهایی گسترش، واکنش های PCR در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه دیگر انکوبه شدند. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی رنگ Gel Green Stain، (Iran, AnaCell) در بافر X ۰/۵ Tris/borate/EDTA (TBE) جدا شدند. تعدادی از نمونه ها به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از دستگاه آنالیزر ABI 3730xl با توالی یابی سنگر تعیین توالی شدند. نتایج توالی یابی به دست آمده با استفاده از نرم افزار Chromas نسخه ۲/۶/۶ تجزیه و تحلیل شد.

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک: تجزیه و تحلیل عملکردی *in silico* با استفاده از RegulomeDB (<http://www.regulomedb.org/>)، مرورگر ژنوم Ensembl (<https://www.ensembl.org/>) و HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/>) انجام شد.

تحلیل آماری

انحراف از تعادل هاردی واینبرگ (HWE) با استفاده از آزمون مربع کای در نرم افزار آنلاین SNPStats (<https://www.snptest.net/>) ارزیابی شد. فراوانی آللی و ژنوتیپی نیز با استفاده از همین نرم افزار محاسبه شد. ارتباط بین ژنوتیپ های rs1424941 ACVR2 و PE با استفاده از نرم افزار آنلاین MedCalc نسخه ۲۰/۱۰۰ (<https://www.medcalc.org/>) تعیین شد. قدرت ارتباط بین

جدول شماره ۲: اطلاعات دموگرافی بیماران و گروه کنترل:

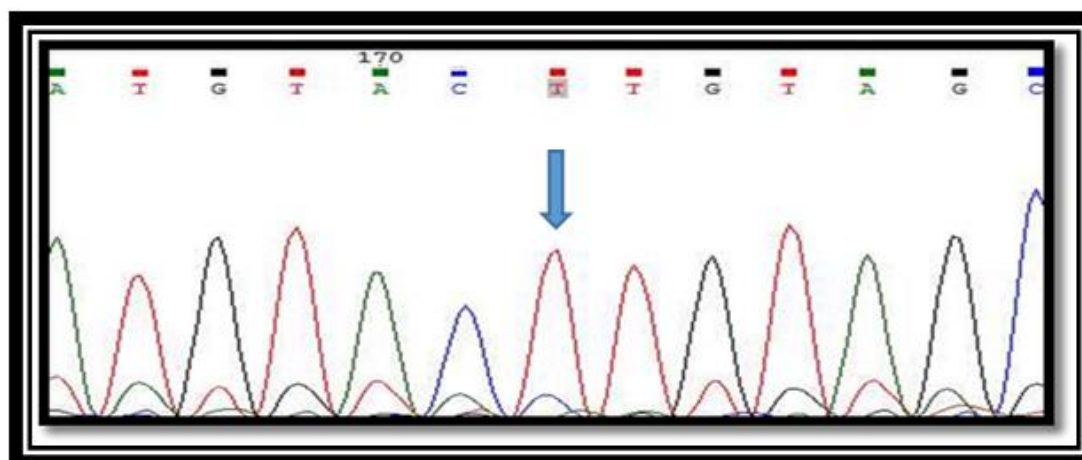
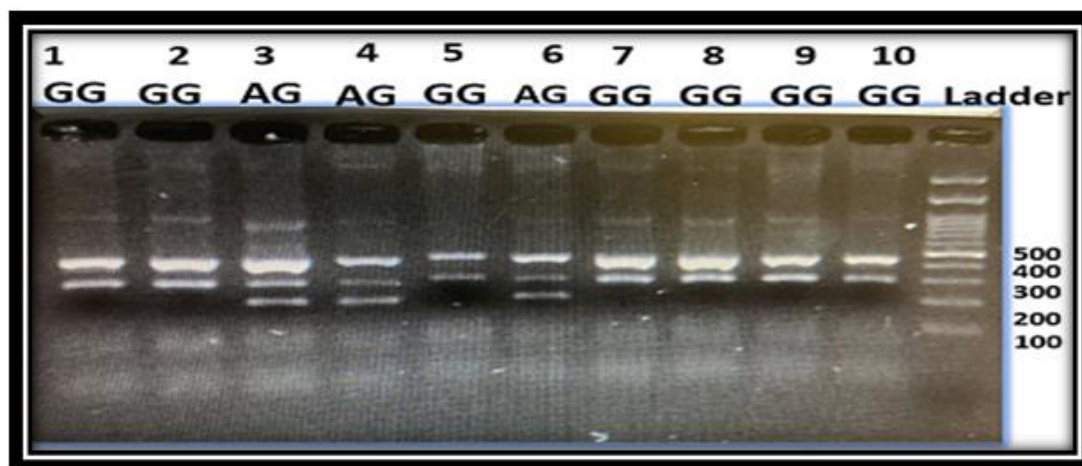
	N=200 بیمار	N=200 کنترل	P-value
شاخص توده بدنی	32.18 ± 5.171 32.02	28.21 ± 4.343 28.08	<0.0001
فشار خون سیستولیک	152.2 ± 14.03 150.0	110.3 ± 7.769 110.0	<0.0001
فشار خون دیاستولیک	96.50 ± 8.796 90.00	73.07 ± 7.286 70.0	<0.0001
سن ازدواج	36.01 ± 3.005 37.00	38.83 ± 1.018 39.00	<0.0001
وزن جنین	2.842 ± 1.280 2.800	3.293 ± 0.4429 3.300	<0.0001

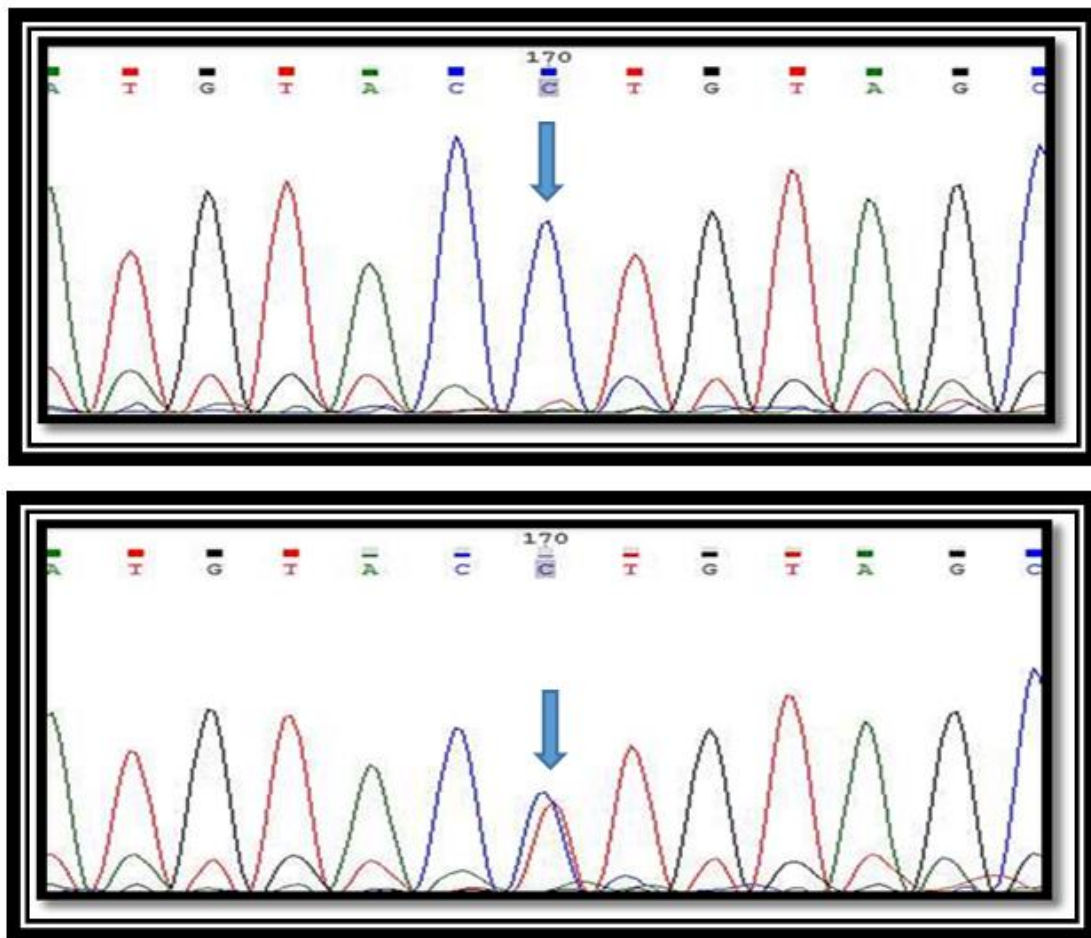
جدول شماره ۳: بررسی همراهی آلل و ژنوتایپ ژن ACVR2A rs1424941

<i>rs1424941</i>					
مدل	آلل / ژنوتایپ	بیمار	کنترل	OR (95% CI)	P-value
	G/G	117 (58.5%)	133 (66.5%)	1	
	G/A	73 (36.5%)	53 (26.5%)	1.57 (1.02-2.04)	0.04*
	A/A	10 (5%)	14 (7%)	0.81 (0.35-1.90)	0.63
غالب	G/G	117 (58.5%)	133 (66.5%)	1	0.099
	A/G-A/A	83 (41.5%)	67 (33.5%)	1.41 (0.94-2.11)	
مغلوب	G/G-A/G	190 (95%)	186 (93%)	1	0.4
	A/A	10 (5%)	14 (7%)	0.70 (0.30-1.61)	
فوق غالب	G/G-A/A	127 (63.5%)	147 (73.5%)	1	0.031*
	A/G	73 (36.5%)	53 (26.5%)	1.59 (1.04-2.44)	
آلل	G	307 (76.75%)	319 (79.75%)	1	0.30
	A	93 (23.25%)	81 (20.25%)	1.19 (0.85-1.67)	

موارد معنی دار با علامت ستاره مشخص شده است.

تصویر ۱: نتایج الکتروفورز ژل آگاروز ۲٪ و تعیین توالی های rs1424941 را نشان می دهد





بحث

در مطالعه حاضر، ما ارتباط بین پلی مورفیسم، rs1424941 و خطر ابتلا به PE را در نمونه‌ای از بیماران ایرانی بررسی کردیم. نتایج نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوت (A/G) rs1424954 با خطر PE مرتبط می‌باشد. مطالعات متعددی نقش پلی مورفیسم ژنوتیپ مادری *ACVR2A* را در پاتوژنز PE بررسی کرده‌اند، اگرچه نتایج متناقضی گزارش شده‌اند [۷، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۶]. Moses و همکارانش اولین کسانی بودند که با استفاده از تکنیک اسکن ژنومی، کروموزوم ۲ را کاندید برای بیماری پره اکلمپسی کردند و با توجه به آنالیزهای بیوانفورماتیک که روی این کروموزوم انجام دادند بیشترین اولویت را به ژن *ACVR2A* rs1424941 [۱۰]. با این حال، یک واریانت اینترونیک است و مانند مطالعه حاضر ارتباط آن با PE قبلاً در جمعیت نروژی گزارش شده بود [۱۷]. با این حال، این ارتباط در چندین جمعیت، از جمله استرالیا/نیوزیلند و شمال

شرقی برزیل مشاهده نشد [۱، ۷]. آلل rs1424941 به‌عنوان یک نوع واریانت اینترونیک، میل فاکتور رونویسی ZEB1 را برای اتصال به موتیف آن در توالی *ACVR2A* تغییر می‌دهد. جالب‌توجه است که کاهش فاکتور رونویسی ZEB1 نقش مهمی در تهاجم تروفوبلاست و پاتوژنز PE ایفا می‌کند. راه دیگری که پلی مورفیسم‌های *ACVR2A* ممکن است به پاتوژنز PE کمک کنند، اتصال به میوستاتین، عضو دیگر از ابر خانواده TGF- β ، به‌عنوان گیرنده آن است. پیشنهاد می‌شود که میوستاتین نقش مهمی در پاتوژنز اختلالات مرتبط با تولیدمثل از جمله PE ایفا می‌کند، اگرچه مکانیسم دقیق آن به‌طور کامل شناخته نشده است [۱۸]. Peiris و همکاران نشان دادند که بیان میوستاتین در زنانی که حاملگی آن‌ها با محدودیت رشد داخل رحمی (IUGR) و PE بیشتر است [۱۸]. پیشنهاد می‌شود که تغییر بیان *ACVR2A* به دلیل واریانت عملکردی آن ممکن است بر عملکرد میوستاتین تأثیر بگذارد و به پاتوژنز PE کمک کند [۱۹].

- [9] Moses EK, Fitzpatrick E, Freed KA, Dyer TD, Forrest S, Elliott K, et al. Objective prioritization of positional candidate genes at a quantitative trait locus for pre-eclampsia on 2q22. *Mol Hum Reprod.* 2006; 12(8): 505-12.
- [10] Yanan F, Rui L, Xiaoying L, Shuang Z, Feng Z, Yingnan W, et al. Association between ACVR2A gene polymorphisms and risk of hypertensive disorders of pregnancy in the northern Chinese population. *Placenta.* 2020; 90: 1-8.
- [11] Glotov AS, Kazakov SV, Vashukova ES, Pakin VS, Danilova MM, Nasykhova YA, et al. Targeted sequencing analysis of ACVR2A gene identifies novel risk variants associated with preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(17): 2790-6.
- [12] Thulluru HK, Michel OJ, Oudejans CB, van Dijk M. ACVR2A promoter polymorphism rs1424954 in the Activin-A signaling pathway in trophoblasts. *Placenta.* 2015; 36(4): 345-9.
- [13] Zeybek B, Celik HA, Aydin HH, Askar N. Polymorphisms in the activin A receptor type 2A gene affect the onset time and severity of preeclampsia in the Turkish population. *J Perinat Med.* 2013; 41(4): 389-99.
- [14] Ward LD, Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(D1): D877-81.
- [15] Lokki AI, Klemetti MM, Heino S, Hiltunen L, Heinonen S, Laivuori H. Association of the rs1424954 polymorphism of the ACVR2A gene with the risk of pre-eclampsia is not replicated in a Finnish study population. *BMC Res Notes.* 2011; 4:545.
- [16] Roten LT, Johnson MP, Forsmo S, Fitzpatrick E, Dyer TD, Brennecke SP, et al. Association between the candidate susceptibility gene ACVR2A on chromosome 2q22 and pre-eclampsia in a large Norwegian population-based study (the HUNT study). *European Journal of Human Genetics.* 2009; 17(2): 250-7.
- [17] Peiris HN, Georgiou H, Lappas M, Kaitu'u-Lino T, Salomón C, Vaswani K, et al. Expression of Myostatin in Intrauterine Growth Restriction and Preeclampsia Complicated Pregnancies and Alterations to Cytokine Production by First-Trimester Placental Explants Following Myostatin Treatment. *Reprod Sci.* 2015; 22(10): 1202-11.
- [18] Wang S, Fang L, Cong L, Chung JPW, Li TC, Chan DY. Myostatin: a multifunctional role in human female reproduction and fertility – a short review. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2022; 20(1): 96.

با این حال، مطالعات بیشتری برای تعریف کامل رابطه بین ACVR2A، میوستانین و ایجاد PE مورد نیاز است. در این مطالعه، ما نشان دادیم که ژنوتیپ rs1424941 (A/G) با خطر PE در نمونه‌های مورد مطالعه ما در ارتباط است. بطور کلی، درک نحوه عملکرد ژن‌ها بینش جدیدی در مورد علت ناشناخته پره اکلامپسی ارائه می‌دهد. در نتیجه درمان‌های جدید ممکن است از درک بهتر از پاتوژنز پره اکلامپسی حاصل شود؛ و خطر این بیماری را کاهش دهد.

Reference:

- [1] Fitzpatrick E, Johnson MP, Dyer TD, Forrest S, Elliott K, Blangero J, et al. Genetic association of the activin A receptor gene (ACVR2A) and pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2009; 15(3): 195-204.
- [2] Brichant JF, Bonhomme V. Preeclampsia: an update. *Acta Anaesthesiol Belg.* 2014; 65(4): 137-49.
- [3] Gholami M, Mirfakhraie R, Pirjani R, Taheripana R, Bayat S, Daryabari SA, et al. Association study of FOXP3 gene and the risk of 0020 pre-eclampsia. *Clin Exp Hypertens.* 2018; 40(7): 613-6.
- [4] Ankichetty SP, Chin KJ, Chan VW, Sahajanandan R, Tan H, Grewal A, et al. Regional anesthesia in patients with pregnancy induced hypertension. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* 2013; 29(4): 435-44.
- [5] Abedin Do A, Esmaeilzadeh E, Amin-Beidokhti M, Pirjani R, Gholami M, Mirfakhraie R. ACE gene rs4343 polymorphism elevates the risk of preeclampsia in pregnant women. *J Hum Hypertens.* 2018; 32(12): 825-30.
- [6] Azimi-Nezhad M, Teymoori A, Salmaninejad A, Ebrahimzadeh-Vesal R. Association of MTHFR C677T Polymorphism with Preeclampsia in North East of Iran (Khorasan Province). *Fetal and Pediatric Pathology.* 2020; 39(5): 373-80.
- [7] Ferreira L, Gomes C, Araújo A, Bezerra P, Duggal P, Jeronimo S. Association between ACVR2A and early-onset preeclampsia: replication study in a northeastern Brazilian population. *Placenta.* 2015; 36(2): 186-90.
- [8] Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005; 308(5728): 1592-4.
- [9] Buurma AJ, Turner RJ, Driessen JH, Mooyaart AL, Schoones JW, Bruijn JA, et al. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013; 19(3): 289-303.

Association Study of ACVR2A rs1424941 polymorphism with preeclampsia in Iranian patients

Honarpour A.¹, Majd A.^{2*}, Mirfakhraie R.³, Rahimi M.⁴, Jamaldini S. H.⁵

¹ Department of Genetics, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

^{2*} Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

³ Departments of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁵ Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* (Corresponding author): Ahmad_majd2005@yahoo.com

Received: December 2024

Accepted: January 2025

Abstract

Preeclampsia is one of the most common diseases associated with pregnancy in humans, which is associated with high blood pressure, and is considered one of the main causes of fetal and maternal mortality. This disease occurs in all races, and is only specific to pregnancy. In this study, we investigated the role of ACVR2A rs1424941 gene polymorphism in preeclamptic patients and controls. DNA extraction was performed on 400 peripheral blood samples of people with preeclampsia and healthy people, TP-ARMS-PCR method was used to determine the genotype of the samples from preeclamptic and normal pregnant women. The results of association analysis indicated that rs1424941 variant, heterozygous AG genotype was associated with increased risk of PE. $P=0.04$ the present study for the first time confirmed the role of ACVR2A rs1424941 polymorphism in the pathogenesis of PE in Iranian population. However, repeated studies in different ethnicities are necessary to confirm the role of rs1424941 genotype on susceptibility to preeclampsia.

Keywords: preeclampsia, ACVR2A, polymorphism, rs1424941.