

# **Wpływ form polimorficznych genów transporterów ABC oraz receptorów jądrowych PXR i CAR na ryzyko zachorowania i efekty leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej BCR-ABL1 u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową**

Mgr Anna Madejczyk

## STRESZCZENIE

**Wprowadzenie:** Przewlekła białaczka szpikowa należy do grupy klonalnych chorób rozrostowych układu krwiotwórczego i jest spowodowana nabytym defektem genetycznym multipotencjalnej komórki macierzystej. W patogenezie główną rolę odgrywa powstanie chromosomu Filadelfia czyli translokacji chromosomalnej t(9;22), a na poziomie molekularnym obecność genu fuzyjnego BCR-ABL1. Postęp w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej przyszedł wraz z odkryciem terapii celowanej w postaci inhibitorów kinazy tyrozynowej BCR-ABL1 (IKT). W praktyce klinicznej częste jest zjawisko nabycia oporności na leczenie przez część pacjentów lub wystąpienie niepożądanych objawów podczas terapii. Jest wiele mechanizmów, które prowadzą do wykształcenia oporności wielolekowej. Zróżnicowanie ekspresji genów kodujących transportery ksenobiotyków z rodziny ABC oraz ich czynniki transkrypcyjne jest jedną z głównych przyczyn pierwotnej i wtórnej oporności na terapię.

Głównym źródłem wariacji genetycznych wśród organizmów żywych są zmiany zwane polimorfizmami pojedynczych nukleotydów (SNP). Są one definiowane jako zamiany jednej zasady w danej sekwencji DNA, które występują u 1% populacji z częstotliwością około 1 na 1000 par zasad. Uważa się, że zmienność genetyczna, a w szczególności SNP pojedynczego nukleotydu, mogą być odpowiedzialne za obserwowane różnice w wystąpieniu danych zjawisk jak nowotwory lub oporność na leczenie. W tym kontekście mogą być one użyte jako markery różnych punktów końcowych np. ryzyka wystąpienia choroby, ryzyka niepowodzenia leczenia, gorszego rokowania. Aby ocenić wpływ danego genotypu, SNP są zwykle porównywane w dwóch różnych grupach np.: osoby chore i osoby zdrowe, pacjenci reagujący i pacjenci oporni na leczenie.

Na podstawie doniesień literaturowych i obecnego stanu wiedzy na temat oporności wielolekowej wyselekcjonowano grupę SNP w czterech genach kandydujących, a następnie przeprowadzono genotypowanie w dwóch grupach: badanej i kontrolnej.

Wyniki badań prowadzonych w ramach niniejszej rozprawy mogą prowadzić do lepszego poznania mechanizmu oporności na IKT. W perspektywie mogą się one przyczynić do zwiększenia efektywności metod leczenia pacjentów opornych na standardową terapię i pomóc w lepszej kontroli stanu zdrowia tych osób.

**Cel:** Celem rozprawy doktorskiej jest sprawdzenie czy SNP występujące w genach ABCB1, ABCG2, PXR i CAR mają wpływ na ryzyko zachorowania oraz efekty leczenia IKT pacjentów z PBSz. Aby ten cel zrealizować, przeanalizowano SNP występujące w genach z rodziny transporterów ABC (ABCB1 i ABCG2) oraz czynnikach transkrypcyjnych dla genów regulujących metabolizm ksenobiotyków (PXR i CAR), które mogą mieć wpływ na ryzyko zachorowania oraz efekty leczenia IKT.

**Materiały i metody:** Do badania wykorzystano próbki DNA pobrane od 256 pacjentów z PBSz oraz 223 zdrowych ochotników. Wszyscy pacjenci zostali zdiagnozowani w ośrodkach hematologicznych w Polsce i zostali zakwalifikowani do leczenia w pierwszej linii imatynibem. Druga linia leczenia została włączona u pacjentów, którzy nie odpowiadali na terapię imatynibem bądź zgłaszali zdarzenia niepożądane. Ta grupa otrzymywała dazatynib lub nilotynib. Zgodnie z danymi literaturowymi, do analizy zostały zakwalifikowane cztery geny kandydujące. Dane na temat form polimorficznych zostały pobrane z bazy HapMap ([hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/](http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/)), a za pomocą programu Haploview i zawartego w nim algorytmu Tagger ([broad.mit.edu/mpg/haploview/](http://broad.mit.edu/mpg/haploview/)) oraz przy założeniu czynnika determinacji  $r^2 \geq 0.8$ , wybrano odpowiednie grupy SNP znakujących haplotypy (tagging SNP, tSNP). Do analizy włączono także regiony do pięciu kilopar zasad powyżej i poniżej regionu genomowego, aby do analizy włączyć SNPy, które występują poza regionem kodującym. W badaniu wybrano te SNP, które wykazały wysokie niezrównoważenie sprzężeń (Linkage Disequilibrium, LD), aby genotypowanie SNP obejmujących regiony chromosomalne genów kandydujących pozwoliło ocenić wpływ zmienności genetycznej na określony fenotyp, np. ryzyko zachorowania czy efekt leczenia IKT przy braku konieczności sprawdzania każdego SNP w regionie badanym. Analizę

oparto na założeniu, że częstość rzadziej występującego allele (Minor Allele Frequency; MAF) musi wynosić co najmniej 5% u rasy kaukaskiej.

Rezultatem analizy było wytypowanie 61 SNP dla genów ABCB1, ABCG2, PXR i CAR, których genotypowanie zostało przeprowadzone za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy DNA w czasie rzeczywistym (Real-Time quantitative polymerase chain reaction; RT-qPCR) w oparciu o technologie TaqMan i Kaspar. Do identyfikacji genotypów użyto oprogramowania SDS Software, wersja 2.4 (Applied Biosystems).

W ostatecznej analizie danych, średnia uzyskanych pozytywnych wyników u pacjenta (subjects average call rates) oraz indyktor uzyskanych wyników przypadających na poszczególne SNP (SNP average call rates) wynosił >95%. Zgodność duplikatów (10% wszystkich próbek) wynosiła >99%.

Do celów analizy statystycznej, oszacowano pierwszorzędowe punkty końcowe, obejmujące: czas wolny od progresji (PFS, progression free survival), czas wolny od porażki (FFS, failure free survival), czas całkowitego przeżycia (OS; overall survival). Uzyskanie odpowiedzi klinicznej na leczenie IKT zdefiniowano jako osiągnięcie co najmniej CCyR w ciągu 12 miesięcy od rozpoczęcia leczenia lub osiągnięcia co najmniej MMR w ciągu 18 miesięcy od rozpoczęcia leczenia.

W badaniu oszacowano wpływ SNP na ryzyko zachorowania na PBSz za pomocą metody regresji logistycznej. Podobnie, modele zarówno, jednoczynnikowej jak i, wieloczynnikowej regresji logistycznej, zostały użyte, aby ocenić wpływ parametrów klinicznych i laboratoryjnych, jak również wyników genotypowania na prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi na leczenie. Model proporcjonalnego ryzyka Coxa umożliwił analizę wpływu sprawdzanych wskaźników na zmienne czasowe (OS, PFS, FFS). Zakładając addytywny, ko-dominujący, dominujący i recesywny model dziedziczenia genów, sprawdzano wyniki genotypowania w grupie pacjentów leczonych imatynibem w pierwszej linii, a także dazatynibem i nilotynibem w drugiej linii. Dokonano także retrospektywnej analizy skuteczności leczenia IKT2G.

W końcowej analizie, użyto internetowych narzędzi bioinformatycznych (RegulomeDB, SNPnexus, HaploReg, GTEx), aby ocenić potencjalny wpływ SNP na badane parametry.

**Wyniki:** W ocenie ryzyka zachorowania na PBSz dla zdecydowanej większości badanych form polimorficznych czterech genów kandydatów ABCB1, ABCG2, PXR i CAR po korekcji Bonferroniego nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w rozkładzie genotypów w populacji badanej pacjentów z PBSz oraz grupie kontrolnej. Zaobserwowano jednak trend w kierunku zwiększonego ryzyka wystąpienia PBSz dla ABCG2 rs2725256 (p-trend= 0,046), ABCG2 rs17731799 (p-trend=0,061) oraz ABCG2 rs6857600 (p-trend=0,068) oraz CAR rs11265571 (p-trend=0,079).

W tym badaniu stwierdzono, że nosiciele rzadszego allelu CAR rs4073054A> C SNP istotnie związane z krótszym FFS podczas leczenia imatynibem (OR = 2,42, 95% CI 1,41 - 4,17; p = 0,0014; korekcja Bonferroniego p = 0,048).

W analizie z zastosowaniem modelu regresji logistycznej znaleziono istotne statystycznie zależności pomiędzy SNP, a większym prawdopodobieństwem osiągnięcia CyR po 12 miesiącach leczenia dazatynibem. W dominującym modelu dziedziczenia genów znaleziono cztery istotne statystycznie zależności pomiędzy osiągnięciem CCyR po 12 miesiącach terapii, a SNP w genie ABCB1 rs7787082 (p=0,008; OR=0,2; 95%CI=0,06-0,66), PXR rs2461818 (p=0,036; OR=0,16; 95%CI=0,03-0,89), oraz dwóch w genie ABCG2: rs12505410 (p=0,010; OR=3,82; 95%CI=1,38-10,55) i rs3109823 (p=0,029; OR=2,87; 95%CI=1,11-7,40). Natomiast biorąc pod uwagę recesywny model dziedziczenia, istotność statystyczną wykazały dwa SNP w genie ABCG2: rs2622621 (p=0,038; OR=0,21; 95%CI=0,05-0,92) oraz rs3114018 (p=0,010; OR=0,24; 95%CI=0,08-0,71).

Zaobserwowano istotną statystycznie zależność pomiędzy występowaniem SNPu w genie ABCB1 rs7787082 (p=0,012; OR=4,46; 1,38-14,39) a wystąpieniem powikłań hematologicznych 3 lub 4 stopnia przy założeniu dominującego modelu dziedziczenia genów.

Zaobserwowano istotne statystycznie powiązanie między występowaniem SNP w genie ABCG2 rs2725256 (p=0,026; OR=4,71; 95%CI=1,20-18,47) a wystąpieniem powikłań niehematologicznych przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia genów

Zaobserwowano istotny statystycznie związek między skalą Sokal a długością czasu ogólnego przeżycia (HR=1,34 95%CI=1,21-2,09, p=0,001). Inne parametry kliniczne nie miały związku z czasem całkowitego przeżycia, jak również z czasem do wystąpienia niepowodzenia. Wpływ na ogólne przeżycie wydaje się mieć także wiek w momencie diagnozy, jednak w tej analizie wynik ten jest nieistotny statystycznie.

Przy założeniu dominującego modelu dziedziczenia, istotny statystycznie związek występuje pomiędzy czterema SNP w genach: ABCB1 rs3842 (p=0,012; HR=1,84; 95%CI=1,01-3,33), ABCB1 rs2235023 (p=0,027; HR=2,28; 95%CI=1,03-5,02), CAR rs 11265571 (p=0,037; HR=1,59; 95%CI=0,82-3,08), PXR rs3732360 (p=0,049; HR=0,64; 95%CI=0,40-1,04), a OS w grupie chorych leczonych dazatynibem.

SNP w genie CAR rs2307418 (p=0,000; HR=73,68; 95%CI=4,47-1215,31) wykazuje związek z OS przy założeniu recesywnego modelu dziedziczenia. Szczegóły w tabeli 48 oraz w Suplemencie.

W analizowanej grupie chorych na PBSz leczonych dazatynibem zaobserwowano szereg SNP, które wykazują istotność statystyczną w związku z czasem PFS. Zakładając dominujący model dziedziczenia są to: CAR rs2307418 (p=0,048; HR=2,02; 95%CI=1,19-3,43), PXR rs3732357 (p=0,001; HR=0,42; 95%CI=0,26-0,70), ABCB1 rs2235023 (p=0,011; HR=2,49; 95%CI=1,13-5,50), ABCB1 rs22114102 (p=0,028; HR=1,90; 95%CI=1,00-3,63), PXR rs3732360 (p=0,020; HR=0,59; 95%CI=0,38-0,93), PXR rs11917714 (p=0,020; HR=0,58; 95%CI=0,36-0,92), PXR rs3732359 (p=0,024; HR=0,57; 95%CI=0,36-0,91).

Retrospektywna analiza wpływu dazatynibu i nilotynibu na wyniki leczenia wykazała także kilka istotnych statystycznie zmiennych. Wyniki obserwacji MMR po 12 i 18 miesiącach u pacjentów leczonych IKT2G były identyczne. Do modelu wieloczynnikowego włączono przyczynę odstawienia imatynibu (p=0,040; OR=4.13; 95%CI=1.07-15.97) oraz rodzaj leczenia (p=0,003; OR=6.89; 95%CI=1.91-24.91) i te zmienne okazały się istotne statystycznie.

Przewidywany odsetek chorych pozostających bez progresji po 12 miesiącach wynosił 91.7% (95%CI=82.5-96.2%) dla pacjentów leczonych dazatynibem i 93.2% (95%CI=75.5-98.3%) dla chorych otrzymujących nilotynib. Czynniki, które wykazały niezależny wpływ na wydłużenie PFS w analizie wieloczynnikowej to faza przewlekła PBSz (OR=3.29, 95%CI=1.27-8.54, 0.014) oraz wiek <60 lat (OR=1.02, 95%CI = 1.00-

1.03,  $p=0.027$ ). Natomiast, nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu rodzaju IKT2G na prawdopodobieństwo PFS ( $p=0.861$ ).

Jedynym parametrem istotnie związanym z dłuższym OS w analizie wieloczynnikowej był wiek  $<60$  lat (OR=1.03, 95%CI =1.00-1.04,  $p=0.021$ ), natomiast faza przewlekła PBSz w chwili włączenia IKT2G wykazywała jedynie trend do dłuższego OS w stosunku do fazy akceleracji.

**Wnioski:** Wyniki tego stosunkowo dużego badania wskazują, że warianty polimorficzne w genach ABCB1, ABCG2, CAR i PXR wydają się ważnymi czynnikami w kwestii odpowiedzi na IKT w PBSz, a także determinują podatność na tę chorobę w populacji polskiej.

***Influence of Single Nucleotide Polymorphisms Drug Transporters (ABCB1, ABCG2) and Nuclear Receptors (PXR, CAR) Genes on Susceptibility and Treatment Efficacy of BCR-ABL1 Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia***

Anna Madejczyk, MSc

ABSTRACT

**Introduction:** Chronic myelogenous leukemia belongs to the group of clonal hematopoietic proliferative diseases and is caused by an acquired genetic defect of a multipotent stem cell. The main role in pathogenesis is the creation of the Philadelphia chromosome or t (9; 22) chromosomal translocation, and at the molecular level the presence of the BCR-ABL1 fusion gene. Progress in the treatment of chronic myelogenous leukemia came with the discovery of targeted therapy in the form of BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitors. In clinical practice, it is common for some patients to acquire resistance to treatment or to experience adverse effects during therapy. There are many mechanisms that lead to the development of multi-drug resistance. The diversity of expression of genes encoding xenobiotics transporters from the ABC family and their transcription factors is one of the main causes of primary and secondary resistance to therapy.

The main source of genetic variations among living organisms are changes called single nucleotide polymorphisms (SNP). They are defined as one base changes in a given DNA sequence that occur in 1% of the population at a frequency of about 1 in 1000 base pairs. It is believed that genetic variation, and in particular single nucleotide polymorphisms, may be responsible for the observed differences in the occurrence of given phenomena such as cancer or resistance to treatment. In this context, they can be used as markers for various endpoints e.g. disease risk, risk of treatment failure, worse prognosis. To assess the impact of a given genotype, polymorphisms are usually compared in two different groups, e.g. sick people and healthy people, responding patients and patients refractory to treatment. Based on literature reports and current knowledge on multi-drug resistance, a group of polymorphisms in four candidate genes were selected, followed by genotyping in two groups: study and control. The results of the research conducted in this dissertation may lead to a better

understanding of the mechanism of resistance to BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors. In the long run, they can contribute to increasing the effectiveness of treatment methods for patients resistant to standard therapy and help them better control their condition.

**Aim of the study:** The goal of the doctoral dissertation is to check whether single nucleotide polymorphisms present in the ABCB1, ABCG2, PXR and CAR genes have an impact on the risk of disease and the effects of treatment with BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myelogenous leukemia. To achieve this goal, SNP found in genes from the ABC transporter family (ABCB1 and ABCG2) and transcription factors for genes regulating xenobiotics metabolism (PXR and CAR) that were able to affect the risk of disease and the effects of treatment with BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitors were analyzed.

**Methods:** DNA samples taken from 256 patients with CML and 223 healthy volunteers were used in the study. All patients were diagnosed in hematological centers in Poland and qualified for first-line treatment with imatinib. A second line of treatment was included in patients who did not respond to imatinib therapy or reported adverse events. This group received dasatinib or nilotinib. According to literature data, four candidate genes were qualified for analysis. Data on polymorphic forms were downloaded from the HapMap database ([hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/](http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/)), and using the Haploview program and the Tagger algorithm contained therein ([broad.mit.edu/mpg/haploview/](http://broad.mit.edu/mpg/haploview/)) and assuming the  $r^2 \geq 0.8$  determination factor, the appropriate groups of haplotype tagging polymorphisms (tagging SNP, SNP) were selected. Regions up to five kilo-bases above and below the genomic region were also included in the analysis to include polymorphisms that occur outside the coding region. The study selected those SNP that showed a high linkage disequilibrium (Linkage Disequilibrium, LD) to genotype SNP involving the chromosomal regions of candidate genes to assess the impact of genetic variation on a specific phenotype, e.g. the risk of disease or the effect of IKT treatment in the absence of testing for each SNP in the region considered. The analysis was based on the assumption that the frequency of the less frequent allele (Minor Allele Frequency; MAF) must be at least 5% in Caucasian.

The result of the analysis was the selection of 61 SNP for the genes ABCB1, ABCG2, PXR and CAR, whose genotyping was carried out by means of real-time quantitative



polymerase chain reaction (RT-qPCR) based on TaqMan and Kaspar technologies. SDS Software version 2.4 (Applied Biosystems) was used to identify genotypes. In the final data analysis, the average of positive patient results obtained (subjects average call rates) and the indicator of obtained results per individual SNP (SNP average call rates) was > 95%. The compliance of the duplicates (10% of all samples) was > 99%.

For statistical analysis, primary endpoints were estimated, including: progression free survival (PFS), failure free survival (FFS), and overall survival (OS). Achieving a clinical response to tyrosine kinase inhibitor therapy was defined as achieving at least CCyR (Complete Cytogenetic Response) within 12 months of starting treatment or achieving at least MMR (Major Molecular Response) within 18 months of starting treatment. The study estimated the impact of SNP on the risk of developing CML using a logistic regression method. Similarly, both univariate and multivariate logistic regression models were used to assess the impact of clinical and laboratory parameters as well as genotyping results on the likelihood of treatment response. Cox's proportional risk model enabled the analysis of the impact of the checked indicators on time variables (OS, PFS, FFS). By assuming an additive, co-dominant, dominant and recessive model of gene inheritance, the results of genotyping were checked in the group of patients treated with imatinib in the first line, as well as dasatinib and nilotinib in the second line. A retrospective analysis of the effectiveness of second-generation inhibitor treatment was also made. In the final analysis, online bioinformatics tools (RegulomeDB, SNPnexus, HaploReg, GTEx) were used to assess the potential impact of SNP on the parameters tested.

**Results:** In assessing the risk of developing CML for the vast majority of polymorphic forms of the four candidate genes ABCB1, ABCG2, PXR and CAR after Bonferroni correction, no statistically significant differences were found in the distribution of genotypes in the studied population of patients with CML and the control group. However, a trend towards an increased risk of CML was observed for ABCG2 rs2725256 (p-trend = 0.046), ABCG2 rs17731799 (p-trend = 0.061) and ABCG2 rs6857600 (p-trend = 0.068) and CAR rs11265571 (p-trend = 0.079).

In this study we found that carriers of minor allele of CAR rs4073054A>C SNP significantly associated with shorter TTF on imatinib therapy (OR=2.42, 95%CI 1.41 - 4.17; p=0.0014; Bonferroni corrected p=0.048).

In the analysis using the logistic regression model, statistically significant relationships were found between SNP and a higher probability of achieving a cytogenetic response after 12 months of dasatinib treatment. In the dominant gene inheritance model four statistically significant relationships were found between achieving CCyR after 12 months of therapy and polymorphisms in the ABCB1 rs7787082 gene ( $p = 0.008$ ; OR = 0.2; 95% CI = 0.06-0.66), PXR rs2461818 ( $p = 0.036$ ; OR = 0.16; 95% CI = 0.03-0.89), and two in the ABCG2 gene: rs12505410 ( $p = 0.010$ ; OR = 3.82; 95% CI = 1.38-10.55) and rs3109823 ( $p = 0.029$ ; OR = 2.87; 95% CI = 1.11-7.40). However, given the recessive inheritance model, statistical significance was demonstrated by two SNP in the ABCG2 gene: rs2622621 ( $p = 0.038$ ; OR = 0.21; 95% CI = 0.05-0.92) and rs3114018 ( $p = 0.010$ ; OR = 0.24; 95% CI = 0.08-0.71).

A statistically significant relationship was observed between the occurrence of polymorphism in the ABCB1 rs7787082 gene ( $p = 0.012$ ; OR = 4.46; 1.38-14.39) and the occurrence of grade 3 or 4 hematological complications assuming the dominant gene inheritance model.

A statistically significant association was observed between the presence of SNP in the ABCG2 rs2725256 gene ( $p = 0.026$ ; OR = 4.71; 95% CI = 1.20-18.47) and the occurrence of non-haematological complications assuming a recessive gene inheritance model

A statistically significant relationship was observed between the Sokal scale and the overall survival time (HR = 1.34 95% CI = 1.21-2.09,  $p = 0.001$ ). Other clinical parameters were not related to overall survival time or failure time. Age at the time of diagnosis also seems to have an impact on overall survival, but in this analysis this result is not statistically significant.

Assuming a dominant inheritance model, a statistically significant relationship exists between four SNP in the genes: ABCB1 rs3842 ( $p = 0.012$ ; HR = 1.84; 95% CI = 1.01-3.33), ABCB1 rs2235023 ( $p = 0.027$ ; HR = 2.28; 95% CI = 1.03-5.02), CAR rs11265571 ( $p = 0.037$ ; HR = 1.59; 95% CI = 0.82-3.08), PXR rs3732360 ( $p = 0.049$ ; HR = 0.64; 95% CI = 0.40-1.04) and OS in the group of patients treated with dasatinib.

SNP in the CAR rs2307418 gene ( $p = 0.000$ ; HR = 73.68; 95% CI = 4.47-1215.31) shows a relationship with OS assuming a recessive inheritance model.

In the analyzed group of patients with CML treated with dasatinib, a number of SNP were observed, which show statistical significance in relation to PFS time. Assuming a dominant inheritance model, they are: CAR rs2307418 ( $p = 0,048$ ; HR = 2,02; 95% CI = 1,19-3,43), PXR rs3732357 ( $p = 0,001$ ; HR = 0,42; 95% CI = 0,26-0,70), ABCB1 rs2235023 ( $p = 0,011$ ; HR = 2,49; 95% CI = 1,13-5,50), ABCB1 rs22114102 ( $p = 0,028$ ; HR = 1,90; 95% CI = 1,00-3,63), PXR rs3732360 ( $p = 0,020$ ; HR = 0,59; 95% CI = 0,38-0,93), PXR rs11917714 ( $p = 0,020$ ; HR = 0,58; 95% CI = 0,36-0,92), PXR rs3732359 ( $p = 0,024$ ; HR = 0,57; 95% CI = 0,36-0,91).

A retrospective analysis of the effect of dasatinib and nilotinib on treatment outcomes also showed several statistically significant variables. The results of observation of the molecular response after 12 and 18 months in patients treated with the second generation of tyrosine kinase inhibitors were identical. The multifactorial model included the reason for imatinib withdrawal ( $p = 0,040$ ; OR = 4,13; 95% CI = 1,07-15,97) and the type of treatment ( $p = 0,003$ ; OR = 6,89; 95% CI = 1,91-24,91) and these variables proved to be significant statistically.

The predicted percentage of patients not progressing after 12 months was 91,7% (95% CI = 82,5-96,2%) for patients treated with dasatinib and 93,2% (95% CI = 75,5-98,3%) for patients receiving nilotinib. Factors that showed an independent effect on PFS prolongation in multivariate analysis are the chronic phase CML (OR = 3,29, 95% CI = 1,27-8,54,  $p = 0,014$ ) and age <60 years (OR = 1,02, 95% CI = 1,00-1,03,  $p = 0,027$ ). However, no statistically significant effect of TKIs 2G on PFS probability was found ( $p = 0,861$ ).

The only parameter significantly related to the longer OS in the multifactorial analysis was age <60 years (OR = 1,03, 95% CI = 1,00-1,04,  $p = 0,021$ ), while the chronic phase of CML at the time of TKI 2G inclusion showed only a trend towards a longer OS compared to acceleration phases.

**Conclusion:** The results of this relatively large study indicate that polymorphic variants in ABCB1, ABCG2 and PXR genes seem to be determinants of response to TKIs in CML, as well as, determined susceptibility to CML in Polish population.