

МУТАЦИИ В ГЕНАХ *KIT*, *GNAQ*, *BRAF* И *RAS* У БОЛЬНЫХ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ

К.И. Ковчина¹, И.С. Беляков¹, В.Г. Лихванцева², О.А. Анурова¹, Н.Н. Мазуренко¹

¹ Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

² Центральная клиническая больница РАН, г. Москва

Ключевые слова: увеальные меланомы, *GNAQ*, мутации, *BRAF*, *KIT*, *RAS*

Увеальная меланома (УМ) – одна из наиболее частых внутриглазных опухолей. Онкогены *BRAF* и *NRAS* – частые нарушения в меланомах кожи, однако они редко встречаются в увеальных меланомах. Напротив, мутации в онкогенах *KIT* и *GNAQ*, выявленные в увеальных меланомах, крайне редко встречаются в меланомах кожи. Ген *GNAQ* кодирует альфа-субъединицу гетеротримерного G-белка с активностью ГТФазы. Мутации *GNAQ* лишают ГТФазу способности гидролизовать ГТФ, что приводит к ее активации и передаче сигнала на MAPK-киназный каскад. Генетический анализ УМ необходим для применения специфической молекулярно-направленной (таргетной) терапии для лечения пациентов с метастатическими УМ. Применение иматиниб мезилата рекомендуется при наличии мутаций гена *KIT*, вемулофениба – при наличии мутации *BRAF* (V600E).

Цель работы. Поиск и определение типа мутаций онкогенов *BRAF*, *NRAS*, *KRAS*, *KIT* и *GNAQ* в УМ. ДНК выделяли из ткани опухолей, полученных интраоперационно от 17 пациентов с УМ. Все опухоли гистологически верифицированы. Для выявления мутаций из опухоли выделяли ДНК, амплифицировали в реакции ПЦР с праймерами к областям генов с максимальной частотой мутаций: *BRAF* (экзон 15), *NRAS* (экзон 2), *KIT* (экзон 11), *GNAQ* (экзон 5), *KRAS* (экзон 2). После очистки продукт ПЦР подвергали прямому секвенированию. Мутации онкогенов *BRAF*, *NRAS* не были обнаружены. В 12% (2/17) случаев обнаружены делеции в 11 экзоне гена *KIT*. Мутации гена *GNAQ* в экзоне 5, соответствующие заменам Q209P and Q209L в белке *GNAQ*, обнаружены в 41% (7/17) случаев УМ. Впервые исследованы мутации увеальных меланом у российских пациентов.

Увеальная меланома (УМ) является наиболее распространенной внутриглазной опухолью взрослого населения. В зависимости от места развития опухоли выделяют: меланому хориоидеи, цилиарного тела и радужки [3]. Заболеваемость УМ варьируется в различных регионах мира от 5,3 до 10,9 случаев на миллион населения в год [16]. В США, Дании и Финляндии эти показатели остаются неизменными на протяжении последних 30 лет, тогда как в Швеции отмечается ежегодный прирост на 1% [16]. Соотношение заболеваемости УМ среди лиц с белой кожей и темнокожего населения колеблется от 8:1 до 80:1 и более [4]. У японцев УМ выявляется в 30 раз реже, чем у европейцев. Более редкое выявление заболевания у темнокожих популяций и азиатов указывает на протекторную роль пигментации [4]. Частота заболеваемости растет с возрастом и достигает максимума к 70–75 годам [16, 22]. Медиана заболеваемости УМ приходится на 55 лет. В отличие от меланомы кожи УМ чаще поражает лиц мужского пола [4]. К факторам

риска развития УМ относят невусы и меланоз хориоидеи, а также серо-голубой цвет радужки, пигментный листок которой более тонкий по сравнению с коричневой радужкой и пропускает значительную часть солнечного света на глазное дно. УМ довольно часто ассоциируется с синдромом диспластического невуса, кожной меланомой и невусом Ота [4]. Среди эндогенных факторов риска рассматривают также гормональные нарушения [19]. В отличие от меланомы кожи, при которой воздействие солнечной радиации признано главным экзогенным фактором, способствующим ее развитию, коррелятивная связь между дозой и интенсивностью ультрафиолетового облучения и заболеваемостью УМ не доказана [4, 16].

Для меланомы кожи характерны мутации онкогенов сигнального пути MAPK-киназ, отвечающего за клеточную пролиферацию: *RAF* (в основном *BRAF*, 65–70%), *RAS* (*NRAS*, 20%, *KRAS*, 2%) [6]. Мутации онкогена *BRAF* ассоциированы с хроническим облучением солнечным светом и ультрафиолетом солнца. УМ отличаются от кожных меланом по молекулярному патогенезу и сходны с меланомами скрытых от солнца частей тела: меланомами слизистых оболочек и акральными локали-

Адрес для корреспонденции

Мазуренко Н.Н.

E-mail: nnmazurenko@mail.com

зации. Мутации онкогенов, типичных для кожных меланом, в увеальных меланоммах встречаются значительно реже; так, мутации *BRAF* выявляют в 13% случаев [13].

Известно, что пролиферацию меланоцитов стимулируют ряд факторов роста, таких как: SCF (фактор стволовых клеток) и FGF (фактор роста фибробластов), которые через свои рецепторы *KIT* и *FGFR* вызывают активацию MAPK-каскада [6, 20]. По данным литературы, в меланоммах выявляют амплификацию и мутации гена *KIT*, кодирующего рецептор SCF. Наличие мутаций и амплификации гена *KIT* является основанием для применения в лечении меланом ингибиторов тирозинкиназ, в частности иматиниб мезилата, который успешно применяется в терапии стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта с мутациями в гене *KIT* [10]. Однако сведения об этих мутациях, представленные в литературе противоречивы. Так, по одним данным, мутации гена *KIT* выявлены в 23% акральных меланом, в 15,6% — меланом слизистых оболочек, в 7,7% — меланом конъюнктивы, 1,7% — кожных меланом; но они не выявлены в УМ. Амплификация гена *KIT* выявлена в акральных (27%) и мукозальных меланоммах (26%), реже в меланоммах кожи (7%) и конъюнктивы (7%); не обнаружена в УМ [7]. По другим данным, мутации гена *KIT* выявлены в 11% меланом глаза, из них 9% представлены увеальными меланоммами и 2% — меланоммами конъюнктивы [25]. Карвайал с соавт. обнаружили мутации и амплификации гена *KIT* в 17% меланом разных локализаций при анализе 295 больных и, оценив ответ на проводимое лечение, признают его высокую эффективность в этой подгруппе больных [9].

Установлено, что мутации гена *KIT* не выявляются одновременно с мутациями генов *NRAS* (11% в акральных и 24% в мукозальных) или *BRAF* (отсутствуют в мукозальных меланоммах). Гиперэкспрессия тирозинкиназного рецептора *KIT* при иммуногистохимическом (ИГХ) окрашивании выявлена в 39% случаев меланом, однако она не коррелировала со статусом мутаций или амплификацией гена *KIT* [7]. Генетический анализ мутаций пяти экзонов гена *KIT* (9, 11, 17, 13, 18) [18] и трех экзонов гена *KIT* (11, 17, 13) [21] выявил достоверную корреляцию мутации и повышенной экспрессии рецептора *KIT*.

В последнее время обнаружена мутация нового онкогена *GNAQ* в доброкачественных новообразованиях глаза (в 6% случаев невуса Ота) и кожи (в 83% — голубого невуса) и в 46% увеальных меланом [23]. Ген *GNAQ* картирован на хромосоме 9q21 и кодирует альфа-субъединицу гетеротримерного G-белка, который является ГТФазой. В состав G-белка входят три полипептида: альфа-цепь (*GNAQ*), которая связывает и гидролизует ГТФ, и комплекс бета- и гамма-цепей, который заякоривает G-белок на внутренней стороне цитоплазматичес-

кой мембраны. Мутантный белок *GNAQ* теряет способность гидролизовать связанный с ним ГТФ, что приводит к конститутивной активации *GNAQ* [23]. С помощью *GNAQ*-белка происходит передача сигнала на эффекторы системы вторичных посредников: аденилатциклазу и фосфолипазу C, а также активация MAPK сигнального каскада.

Целью настоящей работы было изучение мутаций генов *KIT*, *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* и *GNAQ* в образцах ДНК увеальных меланом у российских больных.

Материалы и методы

В работе исследовали препараты ДНК, выделенные из 17 увеальных меланом, полученных во время энуклеации глаза или при блокэсцизии опухоли у пациентов с УМ в Центральной клинической больнице РАН. Опухоль верифицировали гистологически и с помощью иммуногистохимического исследования (в том числе с маркером CD117/*KIT*) в отделе патологической анатомии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН [1]. ДНК из образцов свежемороженой опухолевой ткани выделяли методом фенол-хлороформной экстракции.

Анализ мутаций в генах *KIT* (экзон 11), *BRAF* (экзон 15), *NRAS* (экзон 2), *KRAS* (экзон 2) и *GNAQ* (экзон 5) проводили методом ПЦР. Праймеры выбирались так, чтобы полученный ПЦР — продукт содержал область экзона, где локализованы наиболее частые мутации генов *KIT*, *BRAF*, *NRAS*, *KRAS* и *GNAQ*. Параметры температурного цикла ПЦР: начальная денатурация 4 мин при 94 °С; 40 циклов — денатурация ПЦР продукта 30 с при 94 °С, отжиг праймеров в течение 30 с, элонгация 45 с при 72 °С; терминальная элонгация при 72 °С в течение 10 мин. Реакция ПЦР проводилась на амплификаторах «Терцик» (НПФ «ДНК-Технология», Россия) и MJ Mini (BioRad, США). После очистки продукт ПЦР подвергали прямому секвенированию с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant в ООО «Генотех».

Результаты и обсуждение

В работе исследовано 17 образцов опухолевой ДНК от больных УМ, из которых 53% (9/17) случаев выявлены у мужчин и 47% (8/17) — у женщин. Средний возраст больных составил 62 года.

Все препараты сначала тестировали на мутации в 5-м экзоне гена *GNAQ*. В случае отсутствия мутаций препараты тестировали на мутации в 15-м экзоне гена *BRAF*, в 11-м экзоне гена *KIT*, 2-м экзоне гена *NRAS*, 2-м экзоне гена *KRAS*. Мутации генов *BRAF* (экзон 15), *NRAS* (экзон 2) и *KRAS* (экзон 2) в образцах увеальных меланом не обнаружены. Результаты представлены в таблице.

Таблица 1. Результаты исследования мутаций генов *KIT* и *GNAQ* в увеальных меланомах

№ случая	Мутации в мРНК <i>KIT</i>	Мутации в белке <i>KIT</i>	Мутации в мРНК <i>GNAQ</i>	Мутации в белке <i>GNAQ</i>
1	—	—	A667C	Q209P
2	—	—	A667T	Q209L
3	DEL(1691–1699)	DEL(557–560) F	—	—
4	DEL(1709–1747)	DEL(564–576)	—	—
5	—	—	—	—
6	—	—	—	—
7	—	—	A667T	Q209L
8	—	—	A667C	Q209P
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—
12	—	—	—	—
13	—	—	A667T	Q209L
14	—	—	—	—
15	—	—	A667T	Q209L
16	—	—	A667T	Q209L
17	—	—	—	—

«—» — мутаций не обнаружено.

Анализ мутаций гена *KIT* проведен с праймерами к 11-му экзону. Делеции без сдвига рамки считывания являются самыми распространенными мутациями *KIT* в опухолях различного патогенеза, например, в стромальных опухолях ЖКТ [2, 5, 11]. Мутации в 11-м экзоне гена *KIT*, нарушают регуляторный JM-домен рецептора *KIT*, вызывая его конститутивную активацию в отсутствие лиганда.

Мутации в 11-м экзоне гена *KIT* обнаружены в двух случаях увеальных меланом (2/17, 12%). Мутации в образцах №2 и №3 представляют собой короткие делеции без сдвига рамки считывания (см. таблицу). Делеция девяти нуклеотидов в положении 1691–1699 мРНК *KIT* соответствует

делеции трех аминокислот в положении 557–560 белка *KIT* с заменой на фенилаланин (Del(557–560)→F) (рис. 1). Крупная делеция 39 нуклеотидов обнаружена в центральной части 11-го экзона в опухоли № 4, что на белковом уровне соответствует делеции 13 аминокислот (рис. 2).

По данным литературы, мутации гена *KIT* выявляют в 9–11% увеальных меланом [25]. В то же время в выборке кожных меланом человека мутации *KIT* выявлены только в трех образцах из 153 случаев [26] и в 15% случаев акральных меланом [21].

Поиск мутаций гена *GNAQ* проводили с праймерами к 5-му экзону гена. По литературным данным, 46% мутаций 5-го экзона *GNAQ* представляют собой

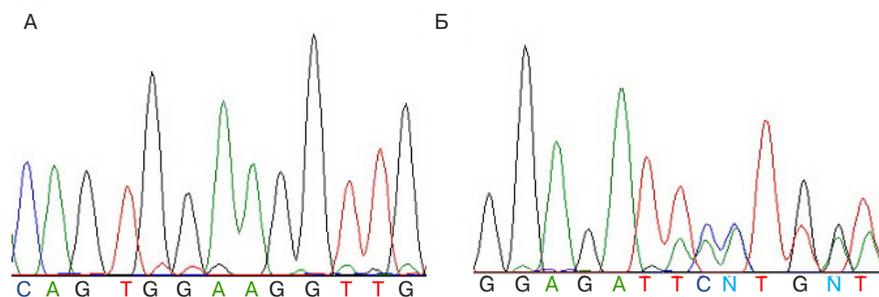


Рис. 1. Результат анализа мутаций в 11-м экзоне мРНК *KIT* в образцах увеальных меланом. А – № 3 (DEL(1691–1699)), Б – № 4 (DEL(1709–1747))

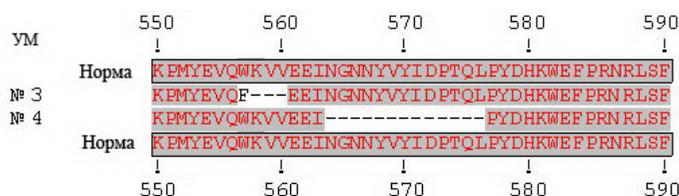


Рис. 2. Мутации белка *KIT* в образцах увеальных меланом (область соответствует 11-му экзону гена *KIT*)

точечную мутацию в 667-м положении (A667T) мРНК *GNAQ*, приводящую к замене глутамина на лейцин в 209-м положении белка (Q209L) [23]. Мутация Q209L обнаружена нами в 5 из 17 образцов (рис. 3), что соответствует 29%.

Кроме того, в двух образцах увеальных меланом были обнаружены точечные мутации в положении 667 мРНК *GNAQ* с заменой аденина на цитозин (A667C), которые приводили к замене глутамина на пролин в положении 209 белка *GNAQ* (Q209P) (рис. 3).

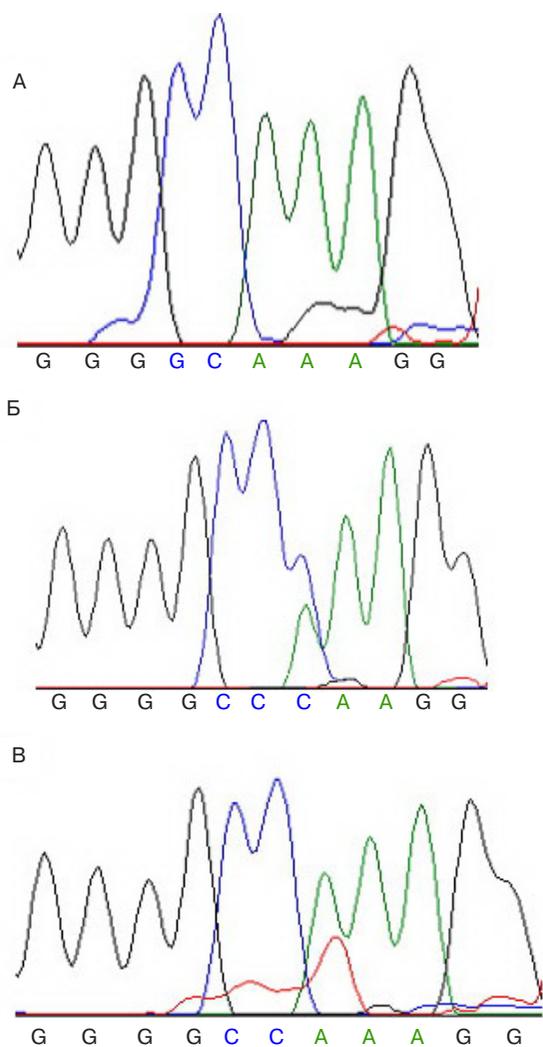


Рис. 3. Результат анализа мутаций в гене *GNAQ* в образцах увеальных меланом. А – № 9 (дикий тип), Б – № 1 (Q209P) и В – № 16 (Q209L)

Мутации *GNAQ* в кодоне 209 обнаружены нами в 41,2% (7/17) увеальных меланом.

По литературным данным, мутация глутамина в 209-м положении в каталитической области белка вызывает нарушение гидролиза GTP и стабилизирует активную GTP-связанную конформацию *GNAQ* [23]. В 2010 году появились публикации о новых мутациях генов, кодирующих γ -субъединицу G-белка в меланоме [8]. Мутации гена *GNAQ* выявлены в меланоме мозга [12]. Тем не менее

другие авторы отмечают отсутствие мутаций *GNAQ* в кожных меланоме [24] и на большом материале рака щитовидной железы [14] и аденомы гипофиза [15], что подчеркивает диагностическую ценность мутаций *GNAQ* для УМ.

Мутации онкогенов *BRAF*, *NRAS*, *KRAS*, *KIT* и *GNAQ* приводят к активации MAPK-митогенного пути. Это согласуется с данными разных авторов об уникальности мутаций онкогенов (*BRAF*, *NRAS*, *KRAS*, *KIT* и *GNAQ*) в исследованных случаях УМ. Предполагают, что активация сигнальных путей за счет мутации ГТФазы *GNAQ* имеет место в случаях сохранения интактности ГТФаз семейства *RAS*.

В 47% случаев (8/17) УМ мутации указанных генов не обнаружены. Тем не менее отсутствие мутаций в 11-м экзоне гена *KIT* в увеальных меланоме не означает отсутствия мутаций в других экзонах, изученных в ряде работ. По данным, полученным при изучении стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта, мутации гена *KIT* выявляют в экзонах 11, 9, 17, 13 [2, 10]. В 16% случаев УМ выявлены мутации *KIT* в экзонах 11 и 18 [18] и в 15% акральных меланом [21], причем, по данным ИГХ-окрашивания, экспрессия *KIT* при УМ коррелирует с наличием мутаций гена *KIT*.

Впервые проведенные исследования увеальных меланом у российских больных подтвердили, что генетические нарушения онкогенов не характерны для УМ. Несмотря на это, мутации *BRAF* и *NRAS* встречаются в УМ в небольшом проценте случаев (*BRAF* V600E в 13%) [13], эти данные крайне важны в связи с разрешением к применению в США нового ингибитора мутантного *BRAF* (V600E) вемуорофениба (препарат Zelboraf, Roche) для лечения метастатических меланом [17].

Мутации гена *KIT* (экзон 11) были обнаружены в 12% случаев. Больным с такими мутациями при наличии высокого риска развития метастазов или в случае состоявшейся системной диссеминации может быть рекомендовано лечение иматинибом (препарат Gleevec, Novartis) [9].

Таким образом, генетическая диагностика становится важной для индивидуальной молекулярно-обоснованной терапии УМ. Нарушение гена *GNAQ* – первая специфическая мутация увеальных меланом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анурова О.А., Лихванцева В.Г., Верещагина М.В. Изучение роли экспрессии трансмембранного рецептора CD117/c-kit в прогрессировании увеальных меланом. Вестник офтальмологии. 2007, т. 123, № 5, с. 41-44.
2. Беляков И.С., Анурова О.А., Снигур П.В. и соавт. Мутации *KIT* и клинико-морфологические особенности стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. Вопр. Онкол. 2007, т. 53, № 6, с. 667-681.
3. Возный Э.К., Белоногов А.В. Меланома нежных локализаций. Практическая Онкология. 2001, т. 8, № 4, с. 65-68.

4. Когония Л.М., Лихванцева В.Г., Анурова О.А. и соавт. Диагностика и факторы риска развития меланомы. М., РОССПЭН. 2009, с. 130-135.
5. Мазуренко Н.Н., Беляков И.С., Цыганова И.В. и соавт. Значение молекулярно-генетических маркеров для прогноза и лечения стромальных опухолей ЖКТ. В кн.: «Достижения и перспективы лекарственного лечения злокачественных опухолей. 2011 год. Этуды химиотерапии III». Под редакцией В.А. Горбуновой. М., Фаргус Принт Медиа. 2011, с. 111-126.
6. Fecher L.A., Cummings S.D., Keefe M.J. et al. Toward a Molecular Classification of Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2007, v. 25, No. 12, p. 1606-1620.
7. Beadling C., Jacobson-Dunlop E., Hodi F.S. et al. *KIT* gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin. Cancer Res.* 2008, v. 14, No. 21, p. 6821-6828.
8. Cárdenas-Navia L.I., Cruz P., Lin J.C. et al. Novel somatic mutations in heterotrimeric G proteins in melanoma. *Cancer Biol. Ther.* 2010, v. 4, No. 1, p. 33-37.
9. Carvajal R.D., Antonescu C.R., Wolchok J.D. et al. *KIT* as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA*. 2011, v. 305, No. 8, p. 2327-2334.
10. Corless C.L., Fletcher J.A., Heinrich M.C. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J. Clin. Oncol.* 2004, v. 22, No. 18, p. 3813-3825.
11. Kitamura Y., Hirota S., Nishida T. Gastrointestinal stromal tumors (GIST): a model for molecule-based diagnosis and treatment of solid tumors. *Cancer Sci.* 2003, v. 94, No. 4, p. 315-320.
12. Küsters-Vandeveldt H.V., Klaasen A., Küsters B. et al. Activating mutations of the *GNAQ* gene: a frequent event in primary melanocytic neoplasms of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2010, v. 119, No. 6, p. 317-323.
13. Maat W., Kilic E., Luyten G.P. et al. Pyrophosphorolysis detects B-RAF mutations in primary uveal melanoma. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008, v. 49, No. 1, p. 23-27.
14. Matsuse M., Mitsutake N., Nishihara E. et al. Lack of *GNAQ* hotspot mutation in papillary thyroid carcinomas. *Thyroid*. 2009, v. 19, No. 8, p. 921.
15. Oyesiku N.M., Evans C.O., Brown M.R. et al. Pituitary adenomas: screening for G-alpha-q mutations. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1997, v. 82, No. 12, p. 4184-4188.
16. Papastefanou V.P., Cohen V.L. Uveal Melanoma. *Journal of Skin Cancer*. 2011, v. 2011, p. 1-13.
17. Ribas A., Flaherty K.T. BRAF targeted therapy changes the treatment paradigm in melanoma. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011, v. 8, No. 7, p. 426-433.
18. Satzger I., Schaefer T., Kuettler U. et al. Analysis of *c-KIT* expression and *KIT* gene mutation in human mucosal melanomas. *Br. J. Cancer*. 2008, v. 99, No. 12, p. 2065.
19. Schmidt-Pokrzywniak A., Jockel K.H., Bornfeld N. et al. Positive interaction between light iris color and ultraviolet radiation in relation to the risk of uveal melanoma: a case-control study. *Ophthalmology*. 2009, v. 116, No. 2, p. 340-348.
20. Singh M., Lin J., Hocker T.L. et al. Genetics of melanoma tumorigenesis. *Br. J. Dermatol.* 2008, v. 158, No. 1, p. 15-21.
21. Torres-Cabala C.A., Wang W.L., Trent J. et al. Correlation between *KIT* expression and *KIT* mutation in melanoma: a study of 173 cases with emphasis on the acral-lentiginous/mucosal type. *Mod. Pathol.* 2009, v. 22, No. 11, p. 1446-1456.
22. Virgili G., Gatta G., Ciccolallo L. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology*. 2007, v. 114, No. 12, p. 2309-2315.
23. Van Raamsdonk C.D., Bezrookove V., Green G. et al. Frequent somatic mutations of *GNAQ* in uveal melanoma and blue naevi. *Nature*. 2009, v. 457, No. 7229, p. 599-602.
24. Van Raamsdonk C.D., Fitch K.R., Fuchs H. et al. Effects of G-protein mutations on skin color. *Nature Genet.* 2004, v. 36, No. 9, p. 961-968.
25. Wallander M.L., Layfield L.J., Emerson L.L. et al. *KIT* mutations in ocular melanoma: frequency and anatomic distribution. *Mod. Pathol.* 2011, v. 24, No. 8, p. 1031-1035.
26. Willmore-Payne C., Holden J.A., Hirschowitz S. et al. *BRAF* and *c-kit* gene copy number in mutation-positive malignant melanoma. *Hum. Pathol.* 2006, v. 37, No. 5, p. 520-527.

Статья поступила 06.09.2011 г., принята к печати 20.10.2011 г.
Рекомендована к публикации А.А. Феденко

***KIT, GNAQ, BRAF* AND *RAS* ONCOGENE MUTATIONS IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA**

Kovchina K.I.¹, Belyakov I.S.¹, Likhvantseva V.G.², Anurova O.A.¹, Mazurenko N.N.¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

²Central Clinical Hospital of RAS

Key words: uveal melanoma, *GNAQ*, mutation, *BRAF*, *KIT*, *RAS*

Uveal melanoma is the most frequent neoplasm of the eyes (UM). Oncogenes *BRAF* and *NRAS* are frequently mutated in melanoma of the skin, but rarely in uveal melanoma. Recently it was shown that oncogenes *KIT* and *GNAQ* are activated in uveal melanoma, but rarely mutated in skin melanoma. Mutation of the gene *GNAQ* is the first specific mutation in uveal melanoma. New oncogene *GNAQ* encodes the alpha subunit of heterotrimeric G-proteins with GTPase activity. Mutant form *GNAQ* protein unable to hydrolyze GTP leads to constitutive activation *GNAQ* and MAP-kinase cascade. The genomic analysis is necessary for specific target therapy of patients with advanced uveal melanoma. Thus, imatinib mesylate was recommended for treatment of UM patients with *KIT* mutations, while vemurofenib was suggested for treatment of UM patients with *BRAF* mutations (V600E).

The aim of our study was to determine the mutations in oncogenes *BRAF*, *NRAS*, *KRAS*, *KIT* and *GNAQ* in DNA from uveal melanoma. Tumor DNA was isolated from fresh tumor tissue obtained during operation of 17 patients with UM. All tumor tissues were histologically verified. For mutation analysis tumor DNA was amplified in PCR with primers to the sites of the most frequent mutations in followed with the sequencing of the PCR products. There were no mutations found in oncogenes *BRAF*, *NRAS* and *KRAS* in UM DNA from 17 patients. Deletions in exon 11 of the gene *KIT* we identified in two of 17 UM cases (12%). Mutations in exon 5 *GNAQ* corresponding to substitutions Q209P and Q209L in *GNAQ* protein were found in seven cases (7/17, 41%).