

УДК 617.735:616–076.4–085.849.19–092.9

## Ультраструктурные изменения сетчатки кроликов после порогового лазерного излучения с длиной волны 532 нм, 577 нм и 810 нм

Н. Е. Думброва, проф., д-р мед. наук, Н. И. Молчанюк, канд. биол. наук, Т. А. Романова, аспирант; Н. М. Гавронская

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса

E-mail: Romanova-work@rambler.ru

**Ключевые слова:** ультраструктурные изменения наружных и внутренних слоев сетчатки кролика, пороговое лазерное воздействие.

**Ключові слова:** ультраструктурні зміни зовнішніх і внутрішніх шарів сітківки кролика, пороговий лазерний вплив.

**Вступ.** Лазерна коагуляція сітківки залишається «золотим» стандартом лікування судинної патології очного дна. Ведеться активне вивчення впливу лазерної енергії різних довжин хвиль на сітчасту оболонку ока, пошук альтернативних методик дозування лазерної енергії, а також пошук оптимальних схем нанесення лазерних коагулятів на уражену область сітківки. Метою роботи було вивчення впливу порогової лазерної дії на ультраструктуру зовнішніх і внутрішніх шарів сітківки кролика лазерами, генеруючими випромінювання з довжиною хвилі 532 нм, 577 нм і 810 нм за даними електронної мікроскопії.

**Матеріал і методи.** Робота виконана на 5 дорослих кроликах (10 очей) породи шиншила, вік 6–7 місяців, масою 2,5–3 кг. Лазерні коагуляти наносились в нижніх сегментах ока, які були поділені умовно на дві частини для виконання зливної і не зливної лазерної коагуляції сітківки, використовувалося лазерне випромінювання з різною довжиною хвилі. Лазерний вплив на сітківку кролика виконувався в міліімпульсному режимі роботи лазера, використовувалися порогові потужності лазерного впливу. Потужність лазерного впливу підбиралася до появи коагулята білого кольору 1–2 ступеня. Контролем була сітківка інтактних кроликів.

**Результати.** Встановлено, що в епіцентрі порогової лазерної дії виникає незворотня загибель фоторецепторних клітин після всіх видів лазерного впливу. Найменшу пошкоджуючу дію на біполярні, гангліозні та мюллеровські клітини має лазерне випромінювання довжиною хвилі 810 нм у порівнянні з лазерами довжиною хвилі 577 нм та 532 нм у режимах їх порогового впливу.

## Ultrastructural changes of the rabbits retina after threshold laser radiation with a wavelength of 532 nm, 577nm and 810 nm

N. E. Dumbrova, N. I. Molchanyuk, T. A. Romanova, N. M. Gavronskaya

SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine»; Odessa (Ukraine)

**Key words:** ultrastructural changes of rabbit retinal of the outer and inner layers, threshold laser action.

*In this article studied the ultrastructural changes of rabbit retinal neuroepithelial after exposure to lasers of different wavelengths. Laser photocoagulation remains the «gold» standard of care for retinal vascular disease. Under active study of the effects of laser energy at different wavelengths on the retina, the search for alternative methods of dosing of laser energy, as well as the search for optimal laser scars schemes applying to the affected area of the retina. The aim of the work was to study the effect of the threshold laser action on rabbit retinal ultrastructure of the outer and inner layers lasers generating radiation with a wavelength of 532 nm, 577 nm and 810 nm by electron microscopy. Work performed on 5 adult rabbits (10 eyes) Chinchilla, age 6 or 7 months, weighing 2.5–3 kg. Laser scars apply in the lower segments of the eyes, which were divided arbitrarily into two parts to perform the confluent and not confluent laser photocoagulation, using laser radiation of different wavelengths. Laser effect on the rabbit retina was performed in millipulse mode laser used laser power threshold effects. Power laser exposure was adjusted until a visible white scar 1–2 degrees. Control was retina intact rabbits. Found that in the midst of the threshold laser action occurs irreversible destruction of photoreceptor cells after all types of laser exposure. Least damaging effect on the bipolar ganglion cells and Muller has a laser wavelength of 810 nm as compared with the laser wavelength 577 nm and 532 nm when used in a threshold mode.*

© Н. Е. Думброва, Н. И. Молчанюк, Т. А. Романова, Н. М. Гавронская, 2014

**Введение.** В настоящее время лазерная коагуляция сетчатки остается «золотым» стандартом лечения сосудистой патологии глазного дна. Эффективность данного метода лечения подтверждена рядом крупномасштабных исследований, таких как Early Treatment Diabetic Retinopathy Research Study Group [2], Branch Vein Occlusion Study Group [1]. В данных исследованиях использовался аргонный лазер, генерирующий излучение в зеленом спектре световой волны (514 нм), с пороговыми значениями мощности излучения, срок наблюдения пациентов составил в среднем 3,1 года. За 30 лет использования данного метода качественно изменились лазерные установки, производится большое количество лазеров, которые имеют разные опции и длину волны, а также выросло количество лазерных вмешательств. Несмотря на успешное применение данного метода лечения, он, как и большинство других методов, имеет ряд недостатков. Например, трудность дозирования лазерной энергии на измененные ткани сетчатой оболочки приводит в последующем к нежелательным изменениям хориоидеи, пигментного эпителия и других слоев сетчатой оболочки. Ряд исследователей показали, что обычная пороговая лазерная коагуляция сетчатки по типу «решетка» при лечении отека макулы может в отдаленном периоде сопровождаться рядом осложнений, связанных с «ползучей» атрофией пигментного эпителия вокруг лазерных прижогов [8, 9], хориоидальной неоваскуляризацией [6, 7], субретинальным фиброзом [3, 4] и ухудшением контрастной чувствительности сетчатой оболочки [5,10]. Поэтому ведется изучение воздействия лазерной энергии разных длин волн на сетчатую оболочку глаза, поиск альтернативных методик дозирования лазерной энергии, а также поиск оптимальных схем нанесения лазерных прижогов на пораженную область сетчатки.

**Цель.** Изучить влияние порогового лазерного воздействия на ультраструктуру наружных и внутренних слоев сетчатки кролика лазерами, генерирующими излучение с длиной волны 532 нм, 577 нм и 810 нм, по данным электронной микроскопии.

### Материал и методы

Работа выполнена на 5 взрослых кроликах (10 глаз) породы шиншилла, возраст 6–7 месяцев, массой 2,5–3 кг. Лазерные прижоги наносились в нижних сегментах глаза, которые были поделены условно на две части для выполнения сливной и несливной лазерной коагуляции сетчатки, использовалось лазерное излучение с разной длиной волны (табл. 1). Воздействие на сетчатку кролика выполнялось в миллиимпульсном режиме работы лазера, использовались пороговые мощности лазерного воздействия. Мощность воздействия подбиралась до появления видимого коагулята белого цвета 1–2 степени. Параметры используемого лазерного воздействия представлены в таблице 2. Контролем служила сетчатка интактных кроликов.

Таблица 1. Распределение зон лазерного воздействия

№ кролика, Глаза	Сегмент глаза	Метод нанесения лазерных прижогов	Режим работы лазера	Длина волны
1.Правый глаз	Нижне-наружный	Сливной	Миллиимпульсный	532 нм
1.Правый глаз	Нижне-внутренний	Несливной	Миллиимпульсный	532 нм
1.Левый глаз	Нижне-наружный	Сливной	Миллиимпульсный	577 нм
1.Левый глаз	Нижне-внутренний	Несливной	Миллиимпульсный	577 нм
2.Правый глаз	Нижне-наружный	Сливной	Миллиимпульсный	810 нм
2.Правый глаз	Нижне-внутренний	Несливной	Миллиимпульсный	810 нм

Таблица 2. Параметры лазерного воздействия

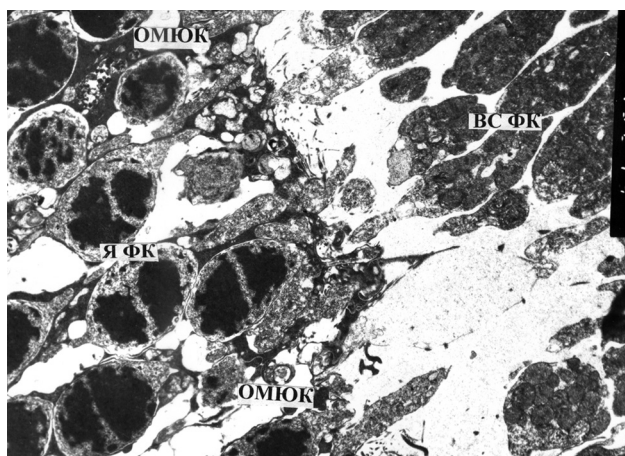
Длина волны (нм)	Диаметр пятна (мкм)	Экспозиция (мс)	Сквандность (мс)	Мощность (мВт)
532	200	200	200	50–70
810	200	200	200	90–130
577	200	200	200	100–150

Забор материала производился через 24 часа после выполнения лазерного воздействия на структуры глазного дна кролика. Эвтаназия животных осуществлялась в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609 ЕЕС).

Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH = 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезживали в спиртах восходящей концентрации. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпонаралдита. Ультратонкие срезы окрашивались растворами уранилацетата и цитрата свинца. Срезы просматривались и фотографировались под электронным микроскопом ПЭМ-100–01.

### Результаты и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование показало, что в фоторецепторном отделе сетчатки в зонах, окружающих лазерное воздействие, нанесенное лазером длиной волны 532 нм при сливном методе нанесения лазерных прижогов, обнаружен отчетный интеррецепторный матрикс, в нём лежат наружные сегменты фоторецепторных клеток с гомогенизированной внутренней структурой, а также внутренние сегменты фоторецепторных клеток в состоянии распада. Отёк распространяется глубже наружной пограничной мембраны сетчатки на значительном участке. В этой зоне часть ядер фоторецепторных клеток с признаками деструкции, часть разрушена, как и окружающие фоторецепторные клетки, отростки мюллеровских клеток (Рис. 1).



**Рис. 1.** Электронная микрофотография. X 3 000. Поврежденные элементы фоторецепторного слоя сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 532 нм. Сливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: ЯФР — ядра фоторецепторных клеток, ВСФК — внутренние сегменты фоторецепторных клеток, ОМЮК — отростки мюллеровских клеток.

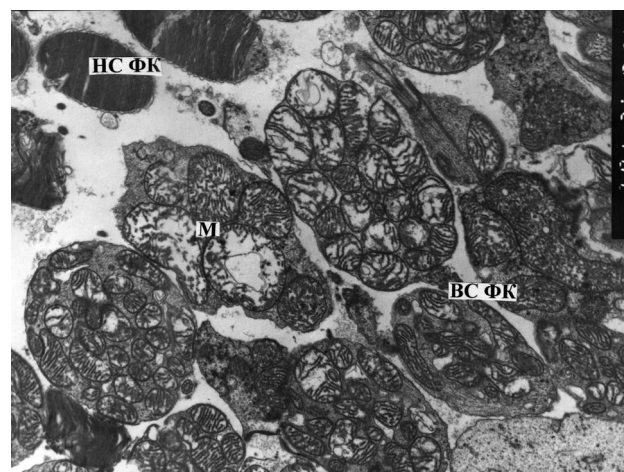
В слое биполярных клеток часть нейронов также подверглась деструкции. Тяжи цитоплазмы мюллеровских клеток резко осмиофильны. В слое ганглиозных клеток отдельные нейроны также имеют признаки деструкции. Отростки мюллеровских клеток, окружающие их, плотные, с гидропическими изменениями.

Электронно-микроскопическое исследование места лазерного воздействия, нанесенного лазером длиной волны 532 нм при несливном методе нанесения лазерных прижогов, показало наличие отека интеррецепторного матрикса, в котором лежат единичные оторванные наружные сегменты фоторецепторных клеток. Последние резко изменены: в них разрушена плазмолемма, диски гомогенизированы или частично разрушены. Наружные сегменты выглядят как бы «спекшимися». Внутренние сегменты фоторецепторных клеток также гомогенизированы, уплотнены. До наружной пограничной мембраны выражен отек. Ядра фоторецепторных клеток в этой зоне большей частью с поврежденной ультраструктурой и выраженным перинуклеарным отеком. При повреждении ядра фоторецепторные клетки не восстанавливаются. Отростки мюллеровских клеток частично разрушены, а более сохранные представляют собой узкие электронно-плотные тяжи. Все же часть структур ядерной области фоторецепторных клеток сохраняют свою относительно нормальную ультраструктуру. В слое биполярных клеток нейроны отличаются выраженным внутриклеточным отеком цитоплазмы с частичной деструкцией органелл. Цитоплазма и ядро мюллеровских клеток резко осмиофильны, структура их почти неразличима.

В слое ганглиозных клеток выражена деструкция цитоплазматических структур ганглиозных клеток, охватывающая часть или всю клетку. Ганглиозные клетки окружены значительно уплотненной и вакуолизированной цитоплазмой отростков мюллеровских клеток. По периферии места воздействия интеррецепторный матрикс отечен, в нем лежат фрагменты наружных сегментов фоторецепторных клеток. Степень их изменений менее глубока и выражается в частичном спаивании мембран дисков, дезорганизации их, а также мелкой вакуолизации. Это стадия выраженной реакции наружных сегментов фоторецепторных клеток на примененное лазерное воздействие. Далее встречаются наружные сегменты фоторецепторных клеток с практически нормальной ультраструктурой. Внутренние сегменты фоторецепторных клеток также ближе к нормальным. В части из них выражена реакция митохондрий в виде вакуолизации последних и деструкции их крист (Рис. 2).

Ядерная часть фоторецепторной клетки близка к нормальной. В слое биполярных клеток часть нейронов сохраняет свою структуру, часть имеет признаки альтерации цитоплазматических элементов. Но цитоплазма мюллеровской клетки сохраняет свою осмиофильность. Ганглиозные клетки имеют признаки внутриклеточной активации. Цитоплазма отростков мюллеровских клеток менее плотная, но вакуолизированная.

Таким образом, существенно различие состояния ультраструктур в очаге воздействия и рядом — периферийнее очага. Если в первом случае наблюдается поражение фоторецепторных клеток,



**Рис. 2.** Электронная микрофотография. X 6 000. Патология митохондрий внутренних сегментов фоторецепторного слоя сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 532. Несливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: НСФК — наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВСФК — внутренние сегменты фоторецепторных клеток, М — митохондрии.

включая их ядра, а как вторичное — развитие патологии нейронов внутренних слоев сетчатки, включая ганглиозные клетки и мюллеровские клетки, то во втором случае наблюдаются более легкие обратимые изменения как структур фоторецепторных клеток, так нейронов других слоев сетчатки.

При сливном методе нанесения лазерных прижогов отличие изменения состояния ультраструктур от несливного метода нанесения лазерных прижогов состоит в том, что обнаруживается однородный очаг, который образовался из поражённых структур, «сплёкшихся» электронно-плотных наружных сегментов фоторецепторных клеток и мелко фрагментированных мембран внутренних сегментов фоторецепторных клеток. Ядра фоторецепторных клеток также повреждены, что свидетельствует о невозможности восстановления структур фоторецепторных клеток. Мюллеровские клетки и нейроны внутренних слоёв сетчатки большей частью имеют признаки значительных повреждений. На удалении от такого очага коагуляции наблюдаются изученные структуры с признаками меньшей альтерации и деструкции.

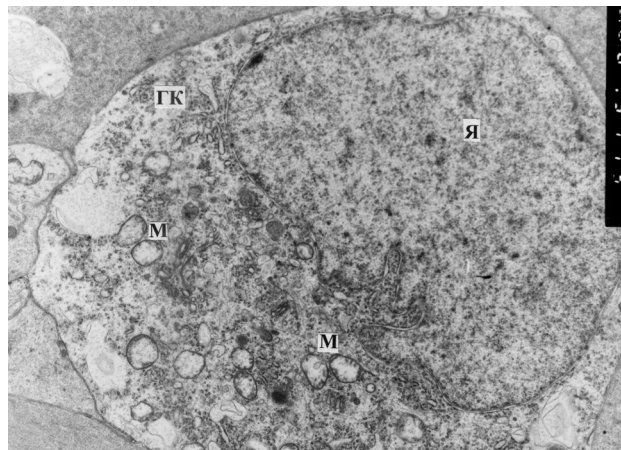
В очаге лазерного воздействия, нанесенного лазером длиной волны 577 нм при сливном методе нанесения лазерных прижогов, фоторецепторные клетки имеют вид как бы «спекшихся»: представляют плотные, гомогенизированные с изъеденными контурами образования. Разрушенные диски и другие мембранные структуры сливаются и превращаются в осмиофильные массы и тяжи. В более сохранных наружных сегментах фоторецепторных клеток видны группы дисков и везикулярные образования. Часть фоторецепторных клеток сохраняет ядро, что обеспечивает способность фоторецепторных клеток к восстановлению.

В слое биполярных клеток часть нейронов также подверглась деструкции. Тяжи цитоплазмы мюллеровских клеток резко осмиофильны. В слое ганглиозных клеток отдельные нейроны также имеют признаки деструкции (Рис. 3). Отростки мюллеровских клеток, окружающие их, плотные, с гидропическими изменениями.

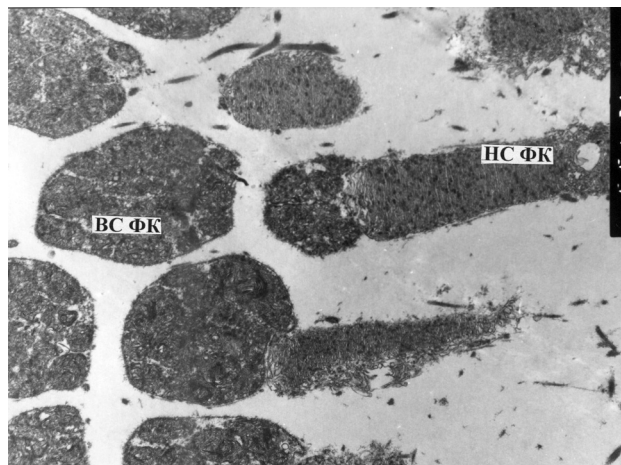
В зоне лазерного воздействия, нанесенного лазером с длиной волны 577 нм при несливном методе нанесения лазерных прижогов, обнаружен отек интеррецепторного матрикса. Деструкция части наружных сегментов и внутренних сегментов фоторецепторных клеток (Рис. 4).

Ядра клеток сохранены, многие из них с перинуклеарным отеком. Нейроны внутренних слоев сетчатки более сохранены по сравнению с вышеописанным. Ганглиозные клетки окружены отростками мюллеровских клеток практически нормального вида.

Таким образом, воздействие лазером длиной волны 577 нм носит менее разрушающее действие



**Рис. 3.** Электронная микрофотография. X 6 000. Состояние ультраструктур ганглиозной клетки сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 577 нм. Сливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: ГК — ганглиозная клетка, Я — ядро, М — митохондрии.



**Рис. 4.** Электронная микрофотография. X 8 000. Патология наружных и внутренних сегменты фоторецепторных клеток сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 577 нм. Не сливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: НС ФК — наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВС ФК — внутренние сегменты фоторецепторных клеток.

на нейроэпителий сетчатки кролика при нанесении сливных прижогов, т.к. остается часть фоторецепторных клеток с сохраненными ядрами, что сохраняет способность фоторецепторных клеток к восстановлению. При нанесении несливных прижогов лазером длиной волны 577 нм внутренние слои нейроэпителия остаются более сохранными, чем при аналогичном воздействии лазером длиной волны 532 нм, однако в эпицентре очага лазерного прижогов наблюдаются сходные изменения при двух видах лазерного воздействия.

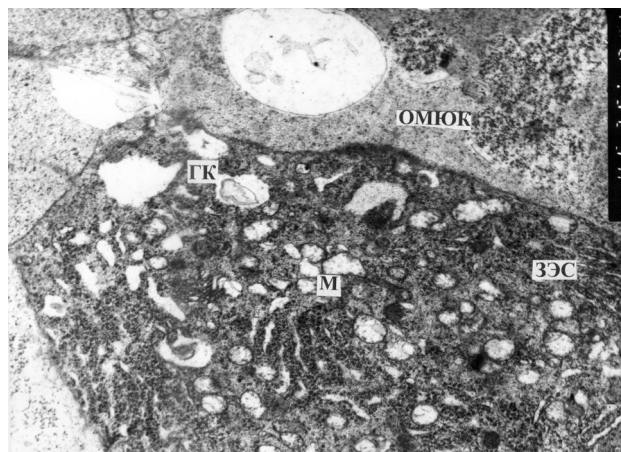
В очаге лазерного воздействия, нанесенного лазером длиной волны 810 нм при сливном методе

нанесения лазерных прижогов, наружные сегменты фоторецепторных клеток имеют различной степени деструкции дисков и плазмолеммы. Внутренние сегменты фоторецепторных клеток также дезорганизованы в различной степени. Ядра фоторецепторных клеток местами отличаются сморщиванием и осмиофилией, но большей частью имеют признаки перинуклеарного отека. Отростки мюллеровских клеток в этой области или разрушены или отличаются повышенной электронной плотностью. Нейроны биполярного слоя имеют признаки отека цитоплазмы и альтерации ее органелл. Мюллеровские клетки содержат осмиофильную цитоплазму и такое же ядро. Ганглиозные клетки и окружающие их отростки мюллеровских клеток отличаются от нормальных лёгкими гидропическими изменениями цитоплазмы (Рис. 5).

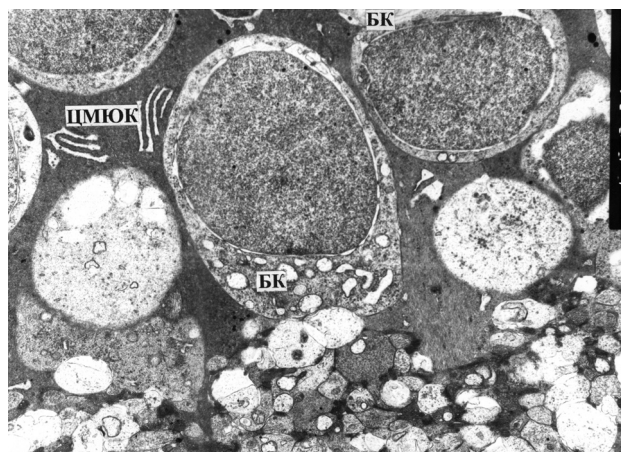
В зоне лазерного воздействия, нанесенного лазером длиной волны 810 нм при несливном методе нанесения лазерных прижогов, в области очага лазерного воздействия обнаруживаются фоторецепторные клетки со «спекшейся» структурой, часто даже неотслоенные от микровилл клеток пигментного эпителия сетчатки. На отдельных участках выражен распад наружных и внутренних сегментов фоторецепторных клеток и отек интеррецепторного матрикса. Ядра фоторецепторных клеток в этой зоне сморщены и осмиофильны, а отростки мюллеровских клеток разрушены. В то же время рядом лежат группы фоторецепторных клеток и их ядра по структуре близки к нормальным. В слое биполярных клеток нейроны отличаются от нормальных лёгкими гидропическими изменениями. Цитоплазма центральной области мюллеровских клеток менее осмиофильна, чем при облучении лазером длиной волны 532 и 577 нм (Рис. 6).

В слое ганглиозных клеток нейроны по ультраструктуре близки к нормальным. Отростки мюллеровских клеток, окружающие ганглиозные клетки, отличаются наличием лёгких гидропических изменений.

Таким образом, наружные и внутренние слои сетчатки кролика поражаются одинаково в зоне непосредственного воздействия лазером длиной волны 810 нм при нанесении прижогов как сливным, так и несливным методом, однако зоны поражения неоднородны, что отличает его воздействие от лазеров длиной волны 532 нм и 577 нм. По мере удаления от эпицентра воздействия уменьшаются признаки деструкции клеток, уменьшается также выраженность деструкции клеток от наружных слоев сетчатки до внутренних, и в слое ганглиозных клеток нейроны по ультраструктуре уже близки к нормальным.



**Рис. 5.** Электронная микрофотография X 4 000. Гидропические изменения цитоплазмы ганглиозной клетки и отростков мюллеровских клеток сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 810 нм. Сливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: ГК — ганглиозная клетка, М — митохондрии, ЗЭС — зернистая эндоплазматическая сеть, ОМЮК — отростки мюллеровских клеток.



**Рис. 6.** Электронная микрофотография X 4 000. Ультраструктура центральной области мюллеровской клетки сетчатки после лазерного воздействия длиной волны 810 нм. Несливной метод нанесения прижогов. Условные обозначения: ЦМЮК — цитоплазма мюллеровская клетка, БК — биполярные клетки.

### Выводы

1. В эпицентре порогового лазерного прижога происходит необратимая гибель фоторецепторных клеток при всех видах лазерного воздействия.
2. При воздействии лазерами длиной волны 577 нм и 810 нм слой ганглиозных клеток не повреждается, в отличие от лазера длиной волны 532 нм.
3. Наименьшим повреждающим действием на биполярные, ганглиозные и мюллеровские клетки обладает лазерное воздействие длиной волны 810 нм по сравнению с лазерами длиной волны 577 нм и 532 нм в режимах их порогового воздействия.

*Литература*

1. Branch Vein Occlusion Study Group. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion // *Am J Ophthalmol.* — 1984. — Vol. 98. — P. 271–282.
2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema (Relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline: ETDRS report no 19) // *Arch Ophthalmol.* — 1995. — Vol. 113. — P. 1144–1155.
3. **Guyer D. R.** Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema / D. R. Guyer, D. J. D'Amico, C. W Smith // *Am J Ophthalmol.* — 1992. — Vol. 113. — P. 652–656.
4. **Han D. P.** Submacular fibrosis after photocoagulation for diabetic macular edema / D. P. Han, W. F. Mieler, T. C. Burton // *Am J Ophthalmol.* — 1992. — Vol. 113. — P. 513–521.
5. **Ishiko S.** The use of scanning laser ophthalmoscope microperimetry to detect visual impairment caused by macular photocoagulation / S. Ishiko, H. Ogasawara, A. Yoshida, et. al. // *Ophthalmic Surg Lasers.* — 1998. — Vol. 29. — P. 95–98.
6. **Lewen RM.** Subretinal neovascularization complicating laser photocoagulation of diabetic maculopathy // *Ophthalmic Surg.* — 1988. — Vol. 19. — P. 734–737.
7. **Lewis H.** Choroidal neovascularization after laser photocoagulation for diabetic macular edema / H. Lewis, A. P. Schachat, M. H. Haimann, et al. // *Ophthalmology.* — 1990. — Vol. 97. — P. 503–510.
8. **Morgan C. M.** Atrophic creep of the retinal pigment epithelium after focal macular photocoagulation / C. M. Morgan, H. Schatz // *Ophthalmology.* — 1989. — Vol. 96. — P. 96–103.
9. **Schatz H.** Progressive enlargement of laser scars following grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema / H. Schatz, D. Madeira, H. R. McDonald, Johnson et. al. // *Arch Ophthalmol.* — 1991. — Vol. 109. — P. 1549–1551.
10. **Sinclair S. H.** Laser treatment of diabetic macular edema: comparison of ETDRS-level treatment with threshold-level treatment by using high-contrast discriminant central visual field testing / S. H. Sinclair, R. Alaniz, P. Presti // *Semin Ophthalmol.* — 1999. — Vol. 14. — P. 214–222.

*Послупила 19.07.2014*

*References*

1. Branch Vein Occlusion Study Group. Argon laser photocoagulation for macular edema in branch vein occlusion. *Am J Ophthalmol.* 1984; 98: 271–82.
2. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema (Relationship of treatment effect to fluorescein angiographic and other retinal characteristics at baseline: ETDRS report no 19). *Arch Ophthalmol.* 1995;113:1144–55.
3. **Guyer DR, D'Amico DJ, Smith CW.** Subretinal fibrosis after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 1992;113:652–6.
4. **Han DP, Mieler WF, Burton TC.** Submacular fibrosis after photocoagulation for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol.* 1992;113:513–21.
5. **Ishiko S, Ogasawara H, Yoshida A et al.** The use of scanning laser ophthalmoscope microperimetry to detect visual impairment caused by macular photocoagulation. *Ophthalmic Surg Lasers.* 1998;29:95–8.
6. **Lewen RM.** Subretinal neovascularization complicating laser photocoagulation of diabetic maculopathy. *Ophthalmic Surg.* 1988;19:734–7.
7. **Lewis H, Schachat AP, Haimann MH et al.** Choroidal neovascularization after laser photocoagulation for diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 1990;97:503–10.
8. **Morgan CM, Schatz H.** Atrophic creep of the retinal pigment epithelium after focal macular photocoagulation. *Ophthalmology.* 1989;96:96–103.
9. **Schatz H, Madeira D, McDonald HR, Johnson et al.** Progressive enlargement of laser scars following grid laser photocoagulation for diffuse diabetic macular edema. *Arch Ophthalmol.* 1991;109:1549–51.
10. **Sinclair SH, Alaniz R, Presti P.** Laser treatment of diabetic macular edema: comparison of ETDRS-level treatment with threshold-level treatment by using high-contrast discriminant central visual field testing. *Semin Ophthalmol.* 1999;14: 214–22.

*Received 19.07.2014*