

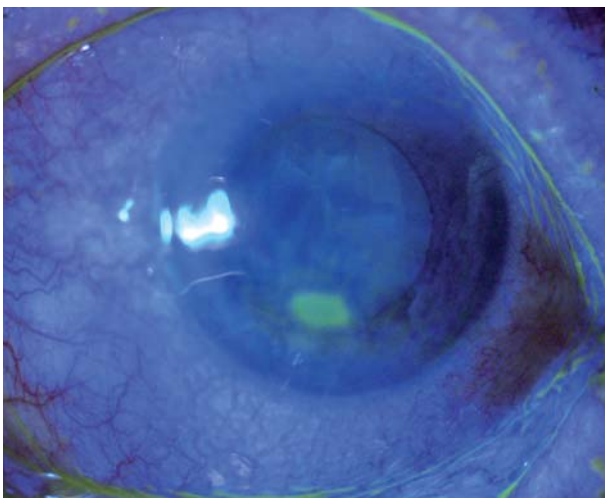
---

# SUEROS HETERÓLOGOS: SUERO ALOGÉNICO, SUERO DE CORDÓN UMBILICAL Y COLIRIO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

*Ana Boto de los Bueis, Almudena del Hierro Zarzuelo, Natalia Pastora Salvador, Aquilino Corral Aragón, Concepción Hernández González, Agustín Fonseca Sandomingo*

El empleo de sueros heterólogos en el tratamiento de las enfermedades de la superficie ocular tiene como indicación la contraindicación del tratamiento con suero autólogo (CSA). El 2,3% de pacientes remitidos al Servicio de Hematología para procesamiento de CSA muestran infección por VHB o VHC desconocida y el 8% muestran algún tipo de marcador (VIH, Sífilis, VHB o VHC) positivo (1). Por otro lado los pacientes con hepatitis por VHC tienen especial predisposición a padecer queratitis y enfermedades ulcerativas corneales (2,3) y la infección por VIH no sólo parece influir en las recurrencias de queratitis herpéticas (4) sino también en su cronicidad (5). Para estos pacientes es conveniente disponer de opciones terapéuticas distintas a una fuente autóloga de sueros biológicos.

Las indicaciones de los colirios heterólogos podrían resumirse en pacientes con imposibilidad de preparar CSA por infección por VIH, Sífilis, VHB o VHC (6,7) o sepsis, pacientes en tratamiento con quimioterapia o enfermedades mediadas por citoquinas, como la artritis reumatoide (fig. 1), donde el CSA



*Fig. 1: Escleritis anterior difusa y melting paracentral en un paciente con artritis reumatoide.*

tiene menor capacidad epiteliotrófica (8), pacientes donde queramos evitar venopunciones repetidas como enfermos hematológicos [enfermedad del injerto contra el huésped (EICH)] o pacientes muy debilitados o con venopunciones complicadas (bebés, obesidad, pacientes psiquiátricos, disminuidos psíquicos o niños).

En pacientes con alteración de la superficie ocular que precisen de un tratamiento epiteliotrófico y contraindicación de CSA disponemos actualmente de varias opciones: los sueros alogénicos (CSAL), como el preparado de donantes sanos (9,10), o el suero de cordón umbilical (CSC) (11-13) han demostrado eficacia y seguridad en humanos. Aunque en la legislación no se contempla específicamente el uso terapéutico de la sangre de cordón umbilical como colirio, la donación y obtención del cordón umbilical para su uso terapéutico en humanos están reguladas en el Real Decreto 1301/2006. Las pacientes donantes firman un consentimiento y reciben información detallada del destino de la sangre obtenida de su cordón umbilical. Con una experiencia más limitada pero comprobado también su poder estimulante en la reparación epitelial corneal, situaríamos al colirio de membrana amniótica (14). La utilización de los colirios de suero de cordón y de membrana amniótica, en nuestro hospital se ha reservado a ensayos observacionales contando con la autorización y aprobación de los pacientes mediante la firma del consentimiento informado. Al igual que con otros productos biológicos, existe siempre riesgo de hipersensibilidad y contaminación; en el caso de los colirios heterólogos, existe también el (importante) riesgo de transmisión de enfermedades por vía parenteral, fundamentalmente VHB, VHC, VIH y sífilis. Por este motivo los donantes se han de someter a los mismos screenings serológicos que los pacientes de colirios autólogos. Además a estos donantes se les realiza una detección rápida de VIH antes de la entrega. Hasta el momento no hay publicado contagio de enfermedades

transmisibles con estos colirios, que tampoco hemos observado nosotros.

La aplicación tópica de albúmina sintética, componente principal del suero, es una herramienta sencilla de utilizar en hospitales donde el procesamiento de colirios de suero autólogo o alogénico sea inviable (15).

En un futuro cercano podremos ver los resultados de los estudios llevados a cabo con colirios de células madre. Las células mesenquimales quizás sean las más fáciles de procesar en esta modalidad por su mayor disponibilidad: las fuentes de células mesenquimales más empleadas son la médula ósea, la sangre del cordón umbilical y el tejido celular subcutáneo. En experimentación animal, no se ha podido demostrar si el efecto regenerativo de estas células sobre la superficie ocular es por su capacidad de diferenciación hacia células de fenotipo epitelial corneal (16) o por modulación paracrina de las células madre limbares (17). A nivel extraocular, estas células tienen una conocida capacidad angiogénica, y aplicadas como colirio han demostrado modular la angiogénesis e inflamación corneal en modelos de quemadura corneal, mejorando la transparencia de las córneas tratadas (18).

### COLIRIO DE SUERO ALOGÉNICO (DE FAMILIAR)

El CSAL ofrece una alternativa terapéutica al CSA en los casos en que éste segundo esté contraindicado o en pacientes donde la extracción frecuente de sangre suponga algún riesgo. Dado que las transfusiones sanguíneas son ampliamente aceptadas, seguras y efectivas, el uso de suero alogénico tópico constituiría un procedimiento ético y legal.

El CSAL se obtiene habitualmente de un familiar sano, consanguíneo o no, sin historia de hepatitis, bacteriemia o riesgo de infección por VIH y con screening serológico negativo. No es necesario tipaje HLA. La forma de preparación es similar a la del CSA.

Existen pocos trabajos en la literatura referentes a la utilización de CSAL en el manejo de patologías de la superficie ocular. Poon y Tsubota fueron los primeros que demostraron *in vitro* que la adición de suero alogénico o xenogénico a defectos epiteliales corneales humanos, aceleraba la migración y proliferación epitelial (19). Posteriormente, Chiang et al. describen su eficacia y falta de efectos secundarios en una serie de 36 pacientes con defecto epitelial persistente de distinta etiología y en 2 casos de enfermedad severa por EICH crónica (9,10).

Nosotros hemos utilizado suero alogénico en dos pacientes con síndrome de Sjögren que presentaban serología positiva para VHC uno de ellos y Ag Hbs positivos el otro (fig. 2). Los donantes fueron familiares consanguíneos, una hermana en el primer caso y una sobrina en el otro. No se observaron efectos adversos a lo largo del tratamiento.

### COLIRIO DE MEMBRANA AMNIÓTICA

El colirio de membrana amniótica supone una alternativa a la utilización de membrana amniótica (MA) como injerto o parche. Tiene como ventajas la disponibilidad en los bancos de tejidos, su seguridad, sin efectos secundarios sistémicos ni oculares, ser menos traumático para el ojo que el implante de MA, y puede ser usado por un largo período de tiempo (el trasplante de membrana se reabsorbe en aproximadamente dos semanas según el estado de inflamación ocular y la técnica quirúrgica empleada).

Estudios *in vitro* han demostrado que el extracto de membrana amniótica (EMA) aplicado en forma de colirio mejora la migración y proliferación epitelial, y disminuye la inflamación, el derretimiento estromal y la neovascularización corneal (20). Estos estudios han mostrado como la suspensión de MA diluida al 30% incrementa la capacidad proliferativa de las células epiteliales localizadas tras el frente de migración. En clínica, se han utilizado preparados de estos colirios con distintas concentraciones: 50%, 30%. El mecanismo por el cual el EMA influye en la epitelización de la superficie ocular implica, entre otros, la riqueza en factores de crecimiento como: EGF (Factor de crecimiento epidérmico), KGF (Factor

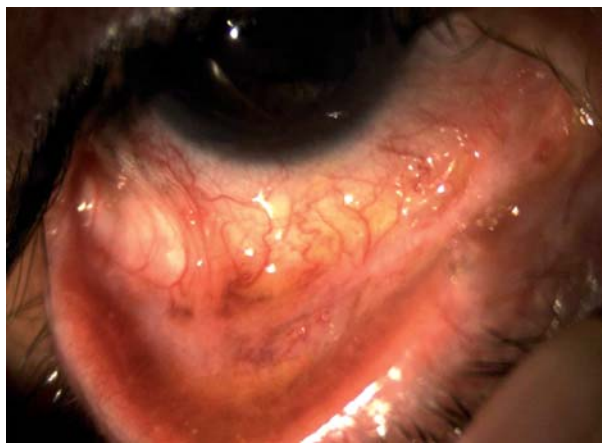


Fig. 2: Conjuntivitis cicatricial crónica por Síndrome de Sjögren.

de crecimiento de keratinocito), HGF (Factor de crecimiento hepatocitario) y FGF-b (Factor de crecimiento fibroblástico básico). También aumenta la expresión de MMP 9 (metaloproteinasas de la matriz extracelular) que tiene un papel inductor importante en la reepitelización (21).

Actualmente estamos realizando en nuestro hospital un estudio en colaboración con la Botica de Argensola (Madrid), que es la que prepara estos colirios, para valorar la eficacia de estos preparados en el manejo de diferentes alteraciones de la superficie ocular. La MA es suministrada por un banco homologado. Viene en piezas de 5x5 cm, adheridas en papel de nitrocelulosa y preservada a  $-80^{\circ}\text{C}$ . El modo de preparación ha sido descrito por Bonci (20), y precisa unas condiciones especiales, debiéndose preparar por personal titulado y entrenado en salas blancas de Clase A (campana de flujo laminar) en entorno Clase B y con vestuario adecuado. A continuación se describen de forma resumida los pasos más importantes en la preparación del colirio de MA.

1.º Descongelar y pesar la Membrana Amniótica. Cortar la MA en piezas más pequeñas.

2. Añadir un mililitro de suero isotónico y agitar a alta velocidad con agitador de cizalla con doble hélice, centrifugando la suspensión durante 20 minutos a 1.500 rpm. El sobrenadante es cuidadosamente separado y transferido a un tubo protegido de luz ultravioleta. Si la membrana se suministra con epitelio realizar una sonicación. Completar hasta el volumen requerido con suero isotónico, mezcla de agente viscosizante, trehalosa, glucosa y minerales diseñado para esta preparación hasta obtener un dilución del 50% o 30%.

3.º Filtración en dos etapas: una primera filtración clarificante con filtro de Millipore® con membrana de Nylon 0,45 micras seguido de un lavado del filtro con suero isotónico con un volumen aproximado del 10% del total y una segunda filtración esterilizante por filtro Millipore® de Poli Eter Sulfona (PES) de 0,2 micras. Completar hasta el volumen requerido para tener solución al 30% de MA con suero isotónico de formulación especial para este colirio.

4.º Dosificar con bomba Watson-Marlow de precisión en los viales para liofilización. Pretaponar.

5.º Liofilizar con un Prefreeze lento de cuatro horas a  $80^{\circ}\text{C}$  bajo cero. Enfriar el condensador a  $-60^{\circ}\text{C}$  y conectar la bomba de vacío hasta un vacío de 100 micrones seguido de una rampa de liofilización de 8 horas a  $-22^{\circ}\text{C}$  en secado primario y una rampa de secado secundario a alto vacío de 0,020mBar en

tres fases de  $-10^{\circ}\text{C}$  cuatro horas,  $0^{\circ}\text{C}$  dos horas y  $25^{\circ}\text{C}$  dos horas. Realizar el taponado automático con inyección de gas nitrógeno estéril dejando un vacío interno en el vial de 0,5mBar para que se efectúe automáticamente la reconstitución al enganchar los dos envases para su uso por el paciente.

6.º Control de Calidad: Humedad adsorbida residual menor del 0,5%, velocidad de disolución menor de tres minutos sin agitación y control microbiológico negativo.

7.º Etiquetado y acondicionado final con preenganche del vial liofilizado y el envase estéril de colirio ya lleno de Agua Para Inyección, para efectuar la reconstitución del liofilizado y evitar manipulaciones del paciente que pudieran contaminar el preparado.

El efecto beneficioso del EMA ha sido demostrado sobre todo en úlceras neurotróficas y causticaciones de la superficie ocular (fig. 3). En el tratamiento de úlceras neurotróficas, Bonci et al. (22) en una serie de 21 ojos y Liang et al. (23) en otra serie de 14 ojos, demuestran una mejoría en la sensibilidad corneal y una epitelización corneal total a los  $22\pm 13$  días. Respecto a su papel en causticaciones corneales, la aplicación tópica de EMA ha demostrado su efectividad en reducir la inflamación y promover la epitelización principalmente en causticaciones agudas con menos de 7 horas de área limbar dañada (24). Por último, en un modelo experimental de quemaduras por álcalis, Shahriari demuestra que el cierre epitelial es más rápido en causticaciones tratadas con EMA respecto al CSA (20). El colirio de MA promueve una más rápida restauración de la superficie ocular con menor neovascularización corneal y opacidad. La concentración de factores de crecimiento

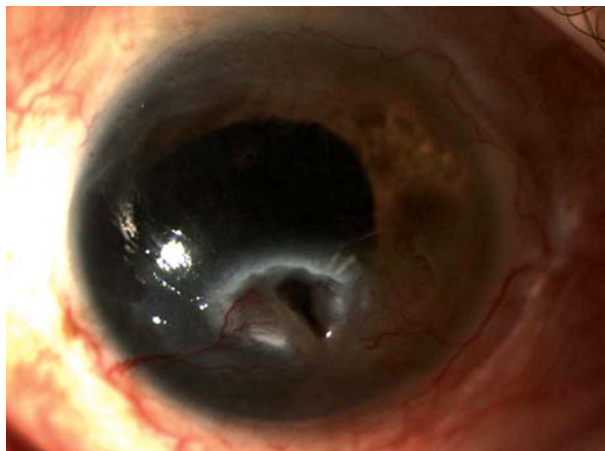


Fig. 3: Úlcera neurotrófica en un paciente con cirugías oculares previas.

de la membrana ha sido relacionada con la edad gestacional y la edad de la donante, por lo que una suspensión preparada de una membrana seleccionada aportaría más factores epiteliotróficos (25).

### COLIRIO DE SUERO DE CORDÓN

La principal ventaja del CSC es que se puede preparar una gran cantidad del mismo con sangre procedente de una sola donante, lo que permite preparar en un solo acto más cantidad de colirio que de una extracción de sangre periférica y además podemos disponer de él de forma anticipada. Al igual que el resto de los preparados biológicos, el suero de cordón presenta las mismas propiedades beneficiosas en el manejo terapéutico de patologías de la superficie ocular, pudiéndose emplear en forma de colirio, en forma de coágulo, como derivados plaquetarios o como factores aislados, etc.

Al igual que el CSA, las propiedades beneficiosas del CSC en la superficie ocular radican en la gran cantidad de componentes lagrimales esenciales, factores de crecimiento celular y antiproteasas séricas que posee el suero sanguíneo; además, estos colirios tienen efectos bacteriostáticos y eliminan la toxicidad derivada de los conservantes (26).

La experiencia previa con suero fetal en cultivos celulares y el uso extenso del suero umbilical como fuente de células madre en el tratamiento del cáncer hematopoyético avalan el beneficio del suero umbilical a nivel celular (27). El suero fetal bovino se ha empleado ampliamente en el laboratorio para promover el crecimiento celular en cultivos, promoviendo la proliferación, migración y diferenciación de las células del epitelio corneal y limbal (12).

El suero de cordón contiene abundantes componentes de la lágrima y factores de crecimiento como EGF, TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformador), vitamina A, NGF (factor de crecimiento nervioso), IGF-1 (factor de crecimiento insulinlike) y sustancia P. Algunos estudios demuestran una concentración significativamente mayor de EGF, TGF- $\beta$  y NGF en el suero de cordón en relación al suero de sangre periférica, siendo superiores, aunque no de forma significativa, los niveles de IGF-1 y significativamente menores las concentraciones de vitamina A y sustancia P (11,13). En todos los casos, la concentración de estos factores fue significativamente superior en suero umbilical y en sangre periférica respecto a la lágrima. La concentración superior de NGF, EGF y TGF- $\beta$  podría ser la causa de la mayor tasa de curación epitelial descrita con el CSC frente al CSA (12).

La utilidad del CSC ha sido descrita en patologías como defectos epiteliales persistentes (12,28), queratoconjuntivitis sicca (11,29), EICH (30) o queratopatía neurotrófica (13). No obstante, dado que el CSC contiene factores tróficos similares al CSA, es lógico pensar que las indicaciones de tratamiento del CSA podrán hacerse extensibles al CSC (26). Así, es esperable que el CSC sea beneficioso para otras patologías como queratoconjuntivitis límbica superior, quemaduras y causticaciones o enfermedad de Stevens-Johnson entre otras.

El uso del CSC está contraindicado en caso de que las serologías realizadas a las madres donantes (en el primer y tercer trimestre) para los virus de la hepatitis B y C, VIH y lúes sean positivas; asimismo, estará contraindicado si la detección de contaminación microbiológica de las muestras de CSC o la detección rápida de VIH (detección de antígeno p24 o PCR) fuera positiva. También, lógicamente, se excluye la preparación de CSC en aquellos casos de gestación complicada, aunque las serologías sean negativas.

La preparación del CSC es análoga a la del CSA. Los pasos fundamentales de su preparación se recogen en la figura 4. En este caso, además del consentimiento del paciente, hemos de obtener el consentimiento de las madres donantes, así como sus serologías en el primer y tercer trimestre para confirmar la negatividad para VHB, VHC, VIH y lúes. Una vez confirmado que las serologías son negativas, se puede ya obtener la sangre de la vena umbilical. Puede realizarse tras el parto por vía vaginal o cesárea, una vez que el bebé ha sido retirado y que el cordón umbilical ha sido clampado. La vena umbili-

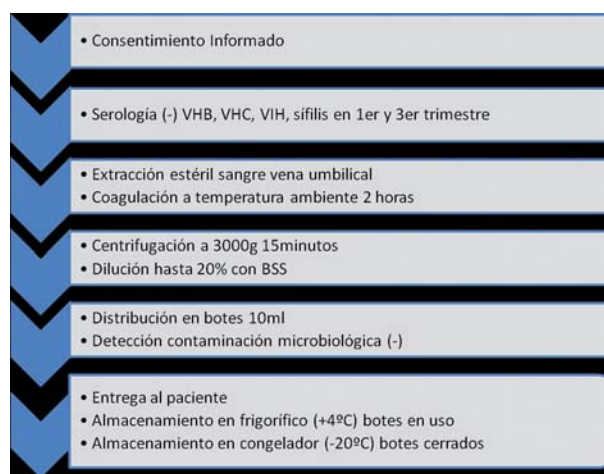


Fig. 4: esquema de preparación del colirio de suero de cordón umbilical.

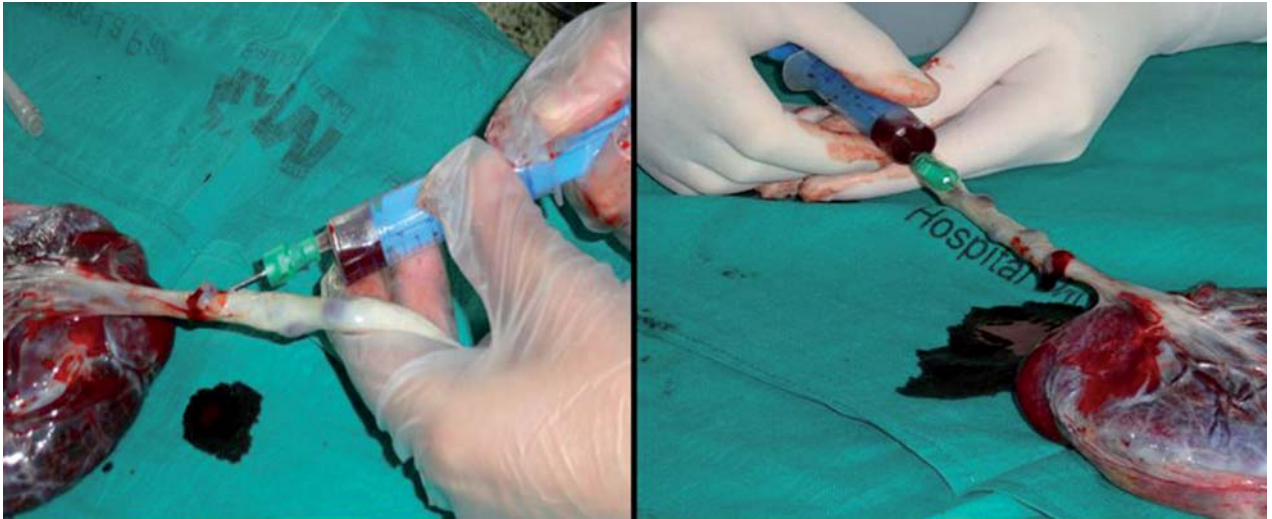


Fig. 5. Extracción de sangre del cordón umbilical.

cal puede canularse con una aguja de gran calibre conectada a una jeringa y aspirar manualmente, o dejar caer la sangre por gravedad a una bolsa colectora (fig. 5). Se suelen recoger entre 100 y 200 ml de sangre venosa de cada cordón umbilical. Se deja entonces coagular la sangre a temperatura ambiente por 2 horas, y posteriormente se centrifuga a 3.000 g durante 15 minutos. Se diluye entonces el suero con solución salina balanceada (BSS) hasta obtener la concentración deseada (generalmente, al 20%). El colirio preparado se distribuye en botes de 10 ml. Uno de los botes de cada lote se remite para detección de contaminación (cultivo de bacterias, virus, hongos) y PCR para VIH. En caso de que todas las

detecciones sean negativas, pueden entregarse los botes de tratamiento al paciente, o almacenarlos listos para su uso. El bote abierto, en uso, ha de mantenerse en el frigorífico a +4°C, mientras que aquellos que no se están utilizando han de almacenarse cerrados en congelador a -20°C.

En nuestro centro, hemos realizado un estudio piloto a doble ciego evaluando la eficacia y seguridad del CSC en comparación con el CSA en defectos epiteliales persistentes y ulceraciones corneales. Se reclutaron 7 pacientes con defectos epiteliales corneales de al menos 2 mm en su eje mayor, con alteración de la sensibilidad, y con ausencia de respuesta tras 2 semanas bajo tratamiento convencional

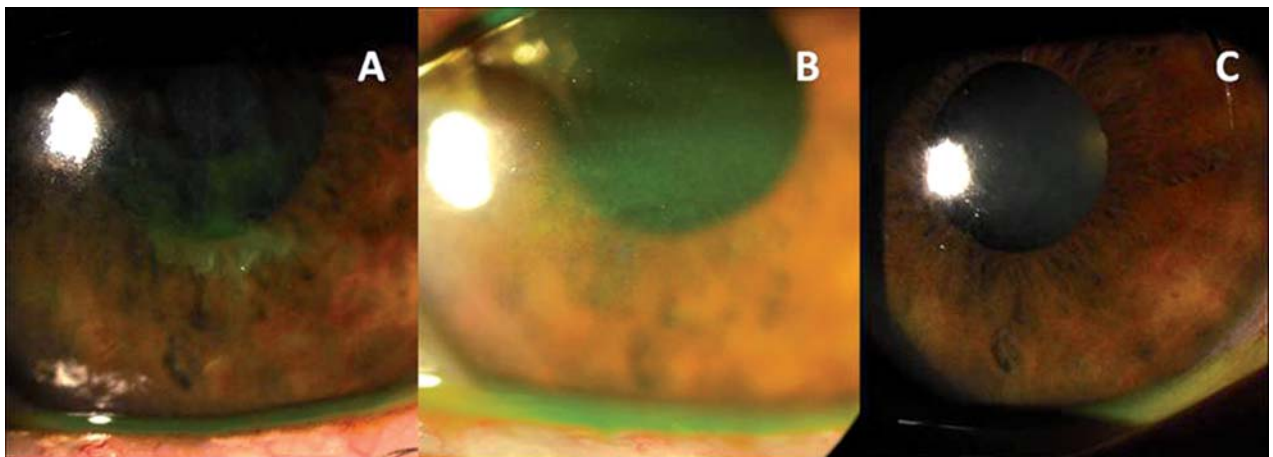


Fig. 6: Paciente de 73 años con lesión trigeminal secundaria a repetidas intervenciones neuroquirúrgicas. A: úlcera corneal anestésica persistente a pesar de tratamiento con lágrimas artificiales sin conservante con hialuronato al 0,4%. B: cierre de la ulceración corneal a la semana de iniciado el tratamiento con CSC. C: superficie corneal regular con queratopatía punteada epitelial leve a las cuatro semanas de tratamiento con CSC.

(lubricantes y lente terapéutica). Tanto el CSC como el CSA se aplicaron 6 veces al día. El cierre completo del defecto epitelial se produjo en la primera semana de tratamiento en el 75% de los casos tratados con CSC frente al 33,3% de los pacientes del grupo de CSA. El 100% de los pacientes del grupo de CSC presentaba un cierre completo del defecto epitelial al final de la 2.<sup>a</sup> semana de tratamiento, por un 66,6% de los pacientes del grupo de CSA (fig. 6). No apreciamos ningún efecto adverso derivado del tratamiento. Este estudio nos hace concluir que el CSC muestra una eficacia y seguridad comparables al CSA. Además, nuestros resultados concuerdan con observaciones previas que apuntaban una tasa de curación epitelial mayor y más rápida con CSC que con CSA (12).

## BIBLIOGRAFÍA

- Weisbach V, Dietrich T, Kruse FE, Eckstein R, Cursiefen C. HIV and hepatitis B/C infections in patients donating blood for use as autologous serum eye drops. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 1724-5.
- Zegans ME, Anninger W, Chapman C, Gordon SR. Ocular manifestations of hepatitis C virus infection. *Curr Opin Ophthalmol* 2002; 13: 423-7.
- Jain AK, Sukhija J, Saini JS, Chawla Y, Dhiman RK. Hepatitis C virus-associated keratitis. *Eye (Lond)* 2004; 18: 131-4.
- Pramod NP, Hari R, Sudhamathi K, Anandakannan SP. Influence of human immunodeficiency virus status on the clinical history of herpes simplex keratitis. *Ophthalmologica* 2000; 14: 337-40.
- Chern KC, Conrad D, Holland GN, Holsclaw DS, Schwartz LK, Margolis TP. Chronic varicella-zoster virus epithelial keratitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Ophthalmol* 1998; 116: 1011-7.
- Eberle J, Habermann J, Gürtler LG. HIV-1 infection transmitted by serum droplets into the eye: a case report. *Aids* 2000; 14: 206-7.
- Zimmermann R, Schwella N, Weisbach V, et al. Screening for markers of transfusion associated infections in preoperative autologous blood donation. *Beitr Infusions-ther Transfusionsmed. Basel: Karger, 1994; 32: 488-91.*
- Harloff S, Hartwig D, Kasper K, Wedel T, Müller M, Geerling G. Epitheliotropic capacity of serum eye drops from healthy donors versus serum from immunosuppressed patients with rheumatoid arthritis. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2008; 225: 200-6.
- Chiang CC, Chen WL, Lin JM, Tsai YY. Allogeneic serum eye drops for the treatment of persistent corneal epithelial defect. *Eye (Lond).* 2009; 23: 290-3.
- Chiang CC, Lin JM, Chen WL, Tsai YY. Allogeneic serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Cornea.* 2007; 26: 861-3.
- Yoon KC, Jeong IY, Im SK, Park YG, Kim HJ, Choi J. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops in the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 231-5.
- R B Vajpayee, N Mukerji, R Tandon, N Sharma, R M Pandey, N R Biswas, N Malhotra, S A Melki. Evaluation of umbilical cord serum therapy for persistent corneal epithelial defects. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 1312-1316.
- Yoon KC, You IC, Im SK, Jeong TS, Park YG, Choi J. Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2007; 114: 1637-42.
- Liang L. Amniotic membrane extraction solution for neurotrophic keratopathy. AAO Chicago 2010. Scientific Poster.
- Unterlauff JD, Kohlhaas M, Hofbauer I, Kasper K, Geerling G. Albumin eye drops for treatment of ocular surface diseases. *Ophthalmologie.* 2009; 106: 932-7.
- Gu S, Xing C, Han J, Tso MOM, Hong J. Differentiation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells into corneal epithelial cells in vivo and ex vivo. *Molecular Vision* 2009; 15: 99-107.
- Ma Y, Xu Y, Xiao Z, Yang W, Zhang C, Song E, Du Y, Li L. Reconstruction of chemically burned rat corneal surface by bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2006; 24: 315-21.
- Oh JY, Kim MK, Shin MS, Lee HJ, Ko JH, Wee WR, Lee JH. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury. *Stem Cells.* 2008; 26: 1047-55.
- Poon AC, Geerling G, Dart KJ, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in Vitro toxicity Studies. *Br J Ophthalmol* 2001; 85: 1188-1197.
- Shahriari HA, Tokhmehchi F, Reza M, Hashemi NF. Comparison of the effects of amniotic Membrane suspension and autologous serum on alkaline corneal epithelial wound healing in the rabbit model. *Cornea* 2008; 27: 1148-1150.
- Jin A Choli, Hyun-Jin Jin, Sambyun Jung, Eunkyung Yang, Jun-Sub Choi, So-Hyang Chung, Choun-Ki Joo. Effects of amniotic membrane suspension in human corneal wound healing in vitro. *Mol Vis* 2009; 15: 2230-8.
- Bonci P, Bonci A. Suspension made with amniotic membrane: clinical trial. *Eur J Ophthalmol* 2005; 15: 441-5.
- L.Liang, H Shesa, Z. Liu. Amniotic Membrane Extract for Neurotrophic keratopathy. *ARVO* 2010; 2391-D939.
- L.Liang, W. Li, S. Ling, H. Shesha, W, Quiu, Ch. Li, Z. Liu. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009; 37: 855-63.
- López-Valladares MJ, Rodríguez-Ares MT, Touriño R, Gude F, Teresa Silva M, Couceiro J. Donor age and gestational age influence on growth factor levels in human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol* 2010; 88: 211-6.

26. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 1467-74.
27. Borderie VM, Mourra N, Laroche L. Influence of fetal calf serum, fibroblast growth factors, and hepatocyte growth factor on three-dimensional cultures of human keratocytes in collagen gel matrix. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999; 237: 861-9.
28. Yoon KC, Heo H, Jeong IY, Park YG. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for persistent corneal epithelial defect. *Korean J Ophthalmol* 2005; 19: 174-8.
29. Yoon KC, Heo H, Im SK, You IC, Kim YH, Park YG. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 86-92.
30. Yoon KC, Jeong IY, Im SK, Park YG, Kim HJ, Choi J. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 231-5.

