□원 저□

인유(人乳) 흡인 백서의 폐포 대식세포에서 Lactalbumin에 대한 면역세포화학적 연구

충남대학교 의과대학 소아과학교실

한 병 길 · 정 용 헌

Immunocytochemical Study for Lactalbumin in Alveolar Macrophage of Human Milk Aspirated Mouse

Byoung Kil Han, M.D. and Young Hun Chung, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Chungnam National University, Taejeon, Korea

Purpose : Aspiration of foreign material into the lungs can cause acute or chronic pulmonary diseases. It is difficult to detect small amounts of aspiration due to the lack of safe, sensitive and specific diagnostic tests. Recently, in animal or human studies, it has been reported that immunochemistry for lactalbumin can be used to detect the minimal aspiration. So, the authors' investigation was designed to determine whether human milk phagocytized alveolar macrophages can be detected in human milk aspirated mice.

Methods : Sixty four male mice, 6-8 weeks old and 30-40 gm weighing, were used for this study. About 0.05 mL of human milk or normal saline were given intranasally once per day for 1 day or 3 days. Under anesthesia with ketamine and xylazine, the trachea of each mouse was cannulated with an 18G Jelco needle and then, each mouse's lungs were lavaged three times with 0.5 mL of phosphate buffer solution at 2, 8, 24, and 48 hours after the last milk or normal saline instillation. Cells in bronchoalveolar lavage fluid were stained with Oil Red O and immunocytochemistry for alpha-lactalbumin.

Results : Immunocytochemical reactivity for alpha-lactalbumin or lipid-laden alveolar macrophages were not observed in the normal saline aspirated groups. Immunocytochemical reactivity for alpha-lactalbumin were observed in the human milk aspirated groups. They showed a peak at 8 hours and decreased markedly at 24 hours but persisted even at 48 hours after aspiration. Immunocytochemical stain positive alveolar macrophages were noted similarly in number between single and multiple aspiration groups.

Conclusion : These observations suggested that alveolar macrophages for lactalbumin could be more easily detected on immunocytochemistry than Oil Red O stain, and immunocytochemistry could be used as a sensitive and specific diagnostic test for the detection of human milk aspiration. (J Korean Pediatr Soc 2003;46:536-540)

Key Words : Human milk aspiration, Alveolar macrophage, Alpha-lactalbumin, Immunocytochemistry

서 론

후천성 폐 질환을 일으키는 원인은 감염, 손상, 중독 등을 들 수 있다. 이 중 감염성 질환은 각종 미생물학적 또는 혈청학적 기법에 의하여 진단할 수 있는 것은 주지의 사실이다. 그러나 비 감염성 인자에 의하여 발생되는 폐 질환의 진단은 주로 병력에 의존하게되고 객관적인 검사법이 없거나 그 방법이 난해하다. 따라서 포괄적으로 흡인성 폐 질환이라고 진단하고 특정 물질이 흡인의 원인일 것으로 추정하는 것이 현실이다.

1997년 Iwadate 등[1]은 사망한 영아의 폐 조직에서 면역화학적 방법으로 모유성분을 검출하였으며 2000년 2월 Elidemir 등[2]은 백서에서 폐 흡인물질을 검출할 수 있는 새로운 검사법을 보고하였고 2000년 5월 Iwadate 등[3]이 사망한 영아의 폐 조직에서 우유 항체를 사용하여 면역조직화학법으로 우유성분을 검출

접수 : 2003년 2월 12일, 승인 : 2003년 4월 7일
책임저자 : 정용헌, 충남대학교병원 소아과
Tel : 042)220-7246 Fax : 042)220-7246
E-mail : rookie@cnu.ac.kr

하였으며 2001년 11월 Iwadate 등[4]이 105명의 사망한 영아 폐 조직에서 항 모유 항체로 면역기법을 이용하여 다수에서 모유에 대한 양성반응이 나타남을 관찰하였다. 국내에서는 2002년 Hong 등[5]이 백서에 우유를 흡인시킨 후 면역세포화학법을 이용하여 대식세포에 의하여 우유 성분이 탐식됨을 관찰하였다. 한편 지질 성분의 흡인물질을 검출하는 데는 Oil-Red-O 염색법을 이용하여 왔으며 특히 지질-함유 대식세포지수를 계산하여 보다 객관적으로 지질 흡인을 확진할 수 있다는 많은 보고가 있었다.

최근 폐 흡인을 진단하기 위하여 면역세포화학법이 개발되었고 이 방법과 기존의 염색법에 대한 비교를 통하여 좀더 정확한 방법을 규명하기 위한 노력이 이루어지고 있다. 또한 우유와 인유 그리고 인유의 채취 시기에 따라 lactoglobulin과 lactalbumin의 양이 다르다.

이 연구의 목적은 인유를 흡인시킨 백서에서 면역세포화학적 방법으로 폐포 대식세포가 인유를 탐식할 수 있는지를 규명하고 아울러 기존의 지질 염색법과의 차이를 비교함으로써 앞으로 임상에 적용할 수 있는 기조를 마련하기 위한 것이다.

대상 및 방법

1. 실험 재료

생후 6-8주, 체중 30-40 g의 수컷 백서(ICR, 다물 사이언스, USA)를 실험에 사용하였으며, 사용된 백서의 수는 시간군과 흡인군별 각 5마리씩 40마리와 대조군 각 3마리씩 24마리로서 총 64마리였다. 실험에 사용된 인유는 성숙기의 것으로써 영하 20도에 보관 후 실험에 이용하였다.

2. 실험 방법

1) 흡인 유발

흡인을 용이하게 하기 위하여 백서를 마취(ketamine 100 mg/kg, Xylazine 10 mg/kg)시킨 후 대조 군에는 생리식염수 0.05 mL를, 실험 군에는 모유 0.05 mL를 코로 넣어 호흡 곤란이 유발되면 기도로 흡인된 것으로 간주하였다[6].

2) 재료 채취

Ketamine 100 mg/kg과 Xylazine 10 mg/kg을 복강 내로 주입하여[7] 마취시킨 후 기관을 노출시킨 다음, 18G 젤코 바늘로 도관하여 인산완충액으로 0.5 mL씩 3회 기관지 세척을 시행하였다. 이 때 대조군은 생리식염수를, 실험군은 인유를 1회 또는 1일 1회씩 3회 주입 후 2, 8, 24, 48시간에, 사망으로 인하여 각기 다른 백서의 기관지폐포 세척을 시행하였으며 세척액 내의 세포를 슬라이드에 더 많이 수집하기 위하여 cytofunnel(Shandon, Pittsburgh, PA)에 넣고 cytospin centrifuge를 이용하여 1분당 1,500회 3분간 원심 분리하였으며 아세톤에 15초 고정 후 -20℃에 냉동 보관하여 각 실험에 사용하였다.

3) 면역 세포화학적 염색

검체의 염색은 acidin biotin complex 방법을 이용하였다. 즉, 슬라이드를 아세톤에 고정 후 3% H_2O_2에 반응시키고 0.05% Triton으로 세척하였으며, 차단 항체(Vector사, USA)로 반응시킨 후 alpha-lactalbumin(DAKO사, USA)과 반응시켰다. 다음 biotinylated IgG(Vector사, USA)와 반응시킨 후 aminoethylcarbazole(AEC)(Vector사, USA) 용액에 노출시키고 대조 염색은 Mayer의 hematoxylin으로 하고 수용성 malline으로 봉입하였다. 음성 대조에는 생리식염수를 흡인한 후에 얻은 세포와 모유를 흡인한 실험 군에서 1차 항체를 사용하지 않고 염색한 세포로 하였으며 결과는 양성세포의 백분율로 표시하였다.

4) Oil Red O 염색

슬라이드를 고정시키고 Oil Red O에 20분간 염색하였으며 증류수로 씻은 후 Mayer의 hematoxylin으로 대조 염색을 하고 malline으로 봉입하였다[8].

5) 통계적 분석

모든 결과는 평균으로 표시하였으며 비모수 검정법인 Non-parametric wilcoxon test를 이용하여 두 군간의 차이를 비교하였으며 $P<0.05$를 통계적 유의 수준으로 판정하였다.

결 과

1. 기관지폐포 세척 액에서 식염수 투여 후 지정 시간별 면역세포화학법 또는 Oil Red O로 염색된 대식세포의 양성률

식염수를 1회 및 1일 1회씩 3회 투여한 각 3례에서 2, 8, 24, 48시간에 검사한 면역세포화학법 또는 Oil Red O로 염색된 대식세포는 관찰되지 않았다(Fig. 1, 3).

2. 인유 1회 투여 후 지정 시간별 면역세포화학법과 Oil Red O 염색법으로 염색된 대식세포의 양성률

인유 1회 투여 후 지정 시간별 각 염색법별 대식세포의 양성률은 Table 1과 같다. 즉, 인유를 투여 후 2, 8, 24, 48시간에 시행된 Oil Red O에 염색된 세포의 양성률은 각각 1, 2, 1, 0%이었으나, alpha-lactalbumin에 대해 염색된 세포의 양성률은 각각 35, 65, 15, 13%로서 지정 시간별 두 염색법간에 양성률은 유의한 차이가 있었다(Table 1, Fig. 2, 4).

Table 1. Comparison of Positive Cells between Immunocytochemical Staining for Alpha-lactalbumin and Oil Red O Staining of Mouse Alveolar Macrophages after Single Human Milk Aspiration by Time(n=5)

Staining	Positive cells according to time sequence after human milk aspiration(%)			
	2 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Alpha-lactalbumin	35	65	15	13
Oil Red O staining	1	2	1	0
P value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

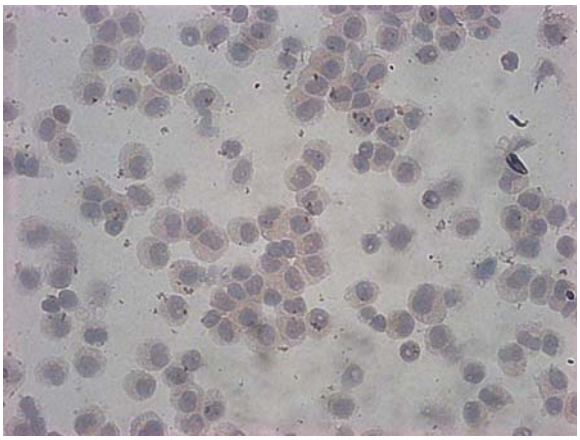

Fig. 1. Immunocytochemical staining of bronchoalveolar fluid of saline aspirated mouse does not show the cytosolic immunoreactivity within macrophages sampled at 8 hours after aspiration(×400).

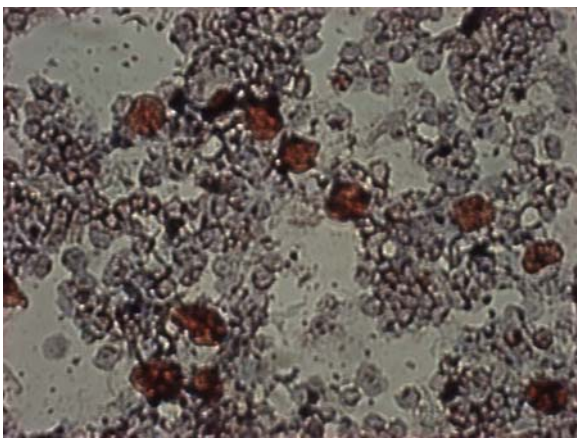

Fig. 2. Immunocytochemical staining of bronchoalveolar fluid of milk aspirated mouse shows the distinct cytosolic immunoreactivity within macrophages sampled at 8 hours after aspiration(×400).

3. 인유 반복 투여 후 지정 시간별 면역세포화학법과 Oil Red O 염색법으로 염색된 대식세포의 양성률

인유를 1일 1회씩 3일 반복 투여 후 지정 시간별 각 염색법별 대식세포의 양성률은 Table 2와 같다. 즉, 인유를 마지막 투여 후 2, 8, 24, 48시간에 시행된 Oil Red O에 염색된 세포의 양성률은 각각 0, 2, 1, 0%이었으나, alpha-lactalbumin에는 각각 38, 70, 16, 15%로서 각 지정 시간별 두 염색법간에 양성률은 유의한 차이가 있었다(Table 2).

4. 인유 투여 회수별 면역세포화학적 염색법상 양성률 비교

인유 1회 투여 군과 반복 투여 군 사이에 면역세포화학적 염색법상 대식세포의 양성률의 시간별 차이를 비교한 결과는 Table 3과 같다. 즉, 두 군 모두 모유 투여 2시간에 발현되고 8시간에 양성률이 높았고 24시간에 감소하였으나 48시간에도 지

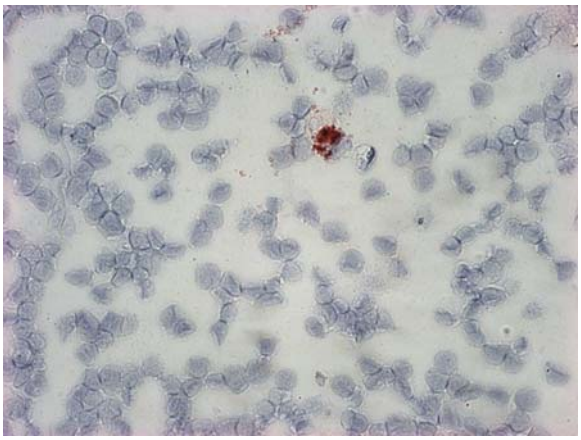

Fig. 3. Oil Red O staining of bronchoalveolar fluid of milk aspirated mouse does not show the lipid laden macrophages (×400).

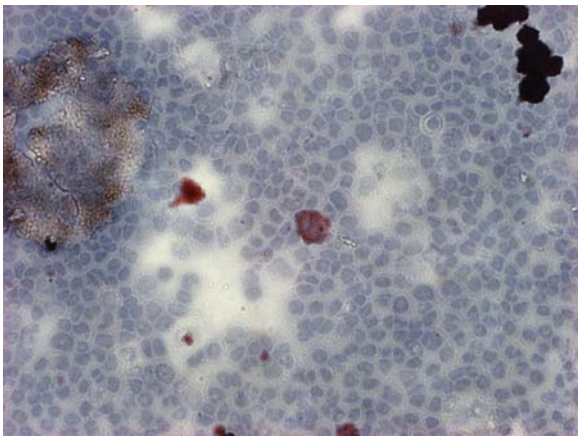

Fig. 4. Oil Red O staining of bronchoalveolar fluid of milk aspirated mouse shows the lipid laden macrophages rarely(×400).

Table 2. Comparison of Positive Cells between Immunocytochemical Staining for Alpha-lactalbumin and Oil Red O Staining of Mouse Alveolar Macrophages after Multiple Human Milk Aspiration(n=5)

Staining	Positive cells according to time sequence after human milk aspiration(%)			
	2 hr	8 hr	24 hr	48 hr
Alpha-lactalbumin	38	70	16	15
Oil Red O staining	0	2	1	0
P value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

속되었으며, 8시간과 24시간 사이에 유의한 차이가 있었으나 동일 시간대별 차이는 관찰되지 않았다(Table 3).

고 찰

폐 속으로 음식물질의 흡인은 급, 만성 폐 질환의 비교적 흔

Table 3. Comparison of Positive Cells between Single and Multiple Aspiration on Immunocytochemical Staining by Time

Aspiration	Positive cells according to time sequence after human milk aspiration(%)				*P* value
	2 hr	8 hr	24 hr	48 hr	
Single	35	65	15	13	<0.05 between 8 & 24 hrs
Multiple	38	70	16	15	<0.05 between 8 & 24 hrs
P value	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	

한 원인으로 여겨져 왔다[9, 10].

폐 흡인의 원인으로 신경학적 결함, 식도이상, 신경근 이상 등 많은 해부학적 기능학적 전제조건들이 있지만 1차적으로 위식도 역류가 가장 중요하고, 거의 모든 영아들은 어느 정도의 위식도 역류를 경험하고 증상의 정도는 상당히 다양하다[11, 12]. 그로 인한 대량의 폐 흡인은 임상적 소견 및 방사선 검사로 쉽게 인식되어질 수 있으나 소량의 흡인은 임상적으로도 명백하지 않거나 확실한 진단이 어렵다.

위식도 역류에 의한 흡인을 발견하기 위한 노력으로 일반적으로 사용되어온 pH-탐식자[13, 14], 바륨조영술[12], 비디오형광투시법을 응용한 바륨조영술 및 위식도 신티그램[15] 등의 방법들이 임상적으로 유용하지만 이는 흡인이 있었다는 과거 사실을 바탕으로 시행되는 간접검사에 해당하므로, 현재 흡인된 여부의 확인에 대해서는 민감도와 특이도 면에서는 부족하다.

이에 직접검사에 의한 현재의 흡인물을 확인하기 위한 방법을 찾는 여러 연구들이 이루어졌는데, 기관지폐포 세척액에서 지질-함유 대식세포들을 Oil Red O 염색으로 확인하는 것이 가장 흔한 진단법으로 여겨져 왔고, 지질-함유 대식세포 지수를 활용함으로써 좀 더 특이도가 있다는 보고들[16-19]과 함께 한 동안 많이 이용되어 왔다.

그러나 폐포 지질-함유 대식세포의 존재가 흡인된 음식물에 의한 것만은 아닐 수 있다는 최근의 논문들로, 지질-함유 대식세포들이 발견되는 경우로는 외상에 의한 폐 지방색전증 환자[20], 겸상세포 질환의 환자[21], 정맥으로 지질과 전신약물을 투여받은 경우[22, 23], 상피세포나 계면활성제의 변성[24], 또한 respiratory syncytial virus, 마이코플라즈마 감염동물 실험에서와 같은 폐 장애에서도 관찰될 수 있기에 폐포 지질함유 대식세포의 존재가 반드시 음식물의 흡인반응을 의미하는 것은 아니다. 따라서 위식도 역류에 의한 폐 흡인물에 대하여 면역조직화학적 또는 면역세포화학적 직접검사를 함으로써 폐 흡인을 확인하고자 한 연구가 대두되고 있다.

모유는 카세인과 유청(whey protein)으로 이루어진다. 이중 유청은 alpha-lactalbumin, lactoferrin, serum albumin, lysozyme 등으로 구성된다. 신생아와 영아의 영양은 인공영양 또는 모유영양에 의하고, 모유영양의 추세가 강하므로, 본 연구는 실제 임상적용의 초기 연구로써, 백서를 이용하여 인유내의 alpha-lactalbumin에 대해 면역세포화학법으로 소량의 인유 흡인을 직접적으로 검출할 수 있는지를 확인하려는 것이었다.

한편 면역조직화학법을 이용한 연구로, Bajanowski 등[25]은 anti-human milk fat globulin antibody를 사용하여 면역조직화학법으로 우유 흡인을 확인하였다. Iwadate 등[3]도 역시 흡인 폐조직 검체에 alpha-lactalbumin, IgA, human milk fat globulin, cow whey protein의 4가지 성분에 대한 항체를 이용한 면역조직화학법으로 모유 흡인을 확인하였고, 특히 alpha-lactalbumin에 대한 검사가 소량의 흡인에 대한 검사로 유용하였음을 보고하였다.

실제 임상에서는 폐 흡인에 의한 조직 검체보다는 기관지폐포 세척술의 발달로 세포 검체의 획득이 훨씬 용이할 것으로 생각된다. 백서를 사용하여 기관지폐포 세척으로 얻은 세포 검체를 이용한 저자들의 연구에서 식염수 흡인 후 얻어진 폐포 대식세포의 alpha-lactalbumin에 대한 면역세포화학 염색에서의 음성결과는 이 검사법의 특이도를 시사하는 결과이었다. 인유 흡인 후 염색법 결과에 영향을 미치는 요인으로는 소량의 인유 흡인 과정에서 백서의 진정상태를 일정하게 하는 어려움이 있었고, 0.05 mL라는 소량이 전량 백서의 폐에 흡인되었다고는 볼 수 없기에 이보다는 훨씬 적은 양이 폐 내로 흡인될 것이고, 따라서 고식적인 Oil Red O 염색법의 양성 결과가 낮았던 것으로 생각된다. 그러나 alpha-lactalbumin에 대한 면역세포화학적 방법은 고식적 염색 방법에 비해 유의한 양성 결과를 보여 주었고, 이는 Elidemir 등[2]의 최근 연구와 유사한 결과를 보여 주었다. 1회 흡인이 일어난 후 경과한 시간에 따른 면역세포학적 양성률이 본 연구에서는 2시간에서부터 나타났고 8시간째에 가장 높았으며 48시간까지 지속됨을 보였고, 1회 흡인과 반복 흡인과의 차이가 없다는 결과는 단 1회의 흡인에 대해서도 민감도가 매우 높은 검사법 임을 보여준 것이었다.

Elidemir 등[2]의 연구에서는 2시간에 나타나서 24시간에서 가장 높았고, 96시간까지도 비교적 높게 유지되는 양성 결과를 보였으나, 본 연구에서는 8시간에서 24시간 사이에 유의한 감소를 보이고, 48시간째에 낮은 양성률로 관찰되어 흡인이 일어난 후 확진을 위한 적절한 검사 시기는 적어도 48시간 이내에 시행되어야 한다고 생각되었다.

최근 들어 위식도 역류로 인한 폐 흡인을 더 오랜 기간동안 양성 결과를 보여줄 수 있는 물질에 대한 연구들[26-28]이 진행되고 있으나 이는 간접검사에 해당하고, 현재 인유같은 폐 흡인물을 직접적으로 검출하는 방법으로 기관지폐포 세척액에서 폐포 대식세포의 alpha-lactalbumin에 대한 면역세포화학적 기법의 유용성을 제시함으로서 앞으로 이 기법을 임상에 직접 활용할 수 있으리라 기대된다.

요 약

목 적 : 인유를 탐식한 폐포 대식세포는 면역세포화학 반응에

관여하며, 기존의 염색법에서보다 면역세포화학기법에 의해 잘 관찰될 수 있음을 규명하여, 인유 흡인을 확인할 수 있는 진단에 활용하고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 : 총 64마리의 백서를 대상으로 소량(0.05 mL)의 모유를 코를 통하여 기도에 흡인시킨 후 지정 시간별로 기관을 도관한 다음, 기관지폐포 세척을 실시하여 얻은 세포에 대하여 면역세포화학적 염색과 Oil Red O 염색을 실시하고 폐포 대식세포들의 탐식 정도를 관찰하였다.

결 과 : 인유 흡인 2시간 후에 Lactalbumin에 대한 양성 대식세포가 관찰되었으며 8시간에 최고이었고 24시간에 감소하였으며 48시간에도 양성 대식세포가 관찰되었다. 그러나 Oil Red O 염색에서 폐포 대식세포들의 검출률은 미미하였다.

결 론 : 본 실험의 결과는 소량의 인유 흡인을 면역세포화학적 기법에 의하여 기관지폐포 세척 액에서 검출할 수 있다는 것을 시사하는 것이었다.

참 고 문 헌

1) Iwadate K, Sakamoto T, Park SH, Doy M, Iwase H, Nagao M, et al. Immunohistochemical detection of human milk components aspirated in lungs of a infant. Forensic Sci Int 1997;90:77-84.
2) Elidemir O, Fan LL, Colasurdo GN. A novel diagnostic method for pulmonary aspiration in a murine model : immunocytochemical staining of milk proteins in alveolar macrophages. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:622-6.
3) Iwadate K, Doy M, Nishimaki Y. Immunohistochemical examination of the lungs in infant death cases using antibodies against milk components. Forensic Sci Int 2000;110:19-28.
4) Iwadate K, Doy M, Ito Y. Screening of milk aspiration in 105 infant death cases by immunostaining with anti-human alpha-lactalbumin antibody. Forensic Sci Int 2001;122:95-100.
5) Hong HS, Byen SH, Chung YH. Immunocytochemical study for detection of lactoglobulin in alveolar macrophages of cow milk aspirated mouse. 소아 알레르기 및 호흡기학회지 2002;4:291-8.
6) Waynforth HB. Experimental and surgical technique in the rat. Academic Press, 1980:127.
7) Tuffery AA. Laboratory animals. 2nd ed, Wiley, Chicago, p324, 1995
8) Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd ed, St. Louis, Mosby, 1980:205.
9) Broe TJ, Toung TJK, Cameron JL. Aspiration pneumonia. Surg Clin North Am 1980;60:1551-64.
10) Taussig LM, Lemen RJ. Chronic obstructive lung disease. Adv Pediatr 1979;26:343-416.
11) Hillemeier AC. Gastroesophageal reflux; diagnostic and therapeutic approaches. Pediatr Clin North Am 1996;43:197-212.
12) McCauley RGK, Darling DB, Leonidas JC, Schwartz AM. Gastroesophageal reflux in infants and children : A useful classification and reliable physiologic technnique for its demonstration. Am J Roentgenol 1978;130:47-50.
13) Pellegrini CA, DeMeester TR, Johnson LF, Skinner DB. Gastroesophageal reflux and pulmonary aspiration : incidence, functional abnormality, and results of surgical therapy. Surgery 1979;86:110-9.
14) Gorrotxategi P, Eizaguirre I, Saenz de Ugarte A, Reguilon MJ, Emparanza J. Characteristics of continuous esophageal pH-metering in infants with gastroesophageal reflux and apparent life-threatening events. Eur J Pediatr Sur 1995;5:136-8.
15) McVeagh P, Howman-Giles R, Kemp A. Pulmonary aspiration studied by radionuclide milk scanning and barium swallow roentgenography. Am J Dis Child 1987;141:917-21.
16) Corwin RW, Irwin RS. The lipid-laden alveolar macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. Am Rev Respir Dis 1985;132:576-81.
17) Colombo JL, Hallberg TK. Recurrent aspiration in children : lipid-laden alveolar macrophage quantitation. Pediatr Pulmonol 1987;3:86-9.
18) Nussbaum E, Maggi JC, Mathis R, Galant SP. Association of lipid-laden alveolar macrophages and gastroesophageal reflux in children. J Pediatr 1987;110:190-4.
19) Collins KA, Geisinger KR, Wagner PH, Blackburn KS, Washburn LK, Block SM. The cytologic evaluation of lipid-laden alveolar macrophages as an indicator of aspiration pneumonia in young children. Arch Pathol Lab Med 1995;119:229-31.
20) Stanley JD, Hanson RR, Hicklin GA, Glazier AJ, Ervanian A, Jadali M. Specificity of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of fat embolism syndrome. Am Sur 1994;60:537-41.
21) Vichinsky E, Williams R, Das M, Earles AN, Lewis N, Adler A, et al. Pulmonary fat embolism : a distinct cause of severe acute chest syndrome in sickle cell anemia. Blood 1994;83:3107-12.
22) Reasor MJ. Drug-induced lipidosis and the alveolar macrophage. Toxicology 1981;20:1-33.
23) Recalde AL, Nickerson BG, Vegas M, Scott CB, Landing BH, Warburton D. Lipid-laden macrophages in tracheal aspirates of newborn infants receiving intravenous lipid infusions : a cytologic study. Pediatr Pathol 1984;2:25-34.
24) Cohen AB, Cline MJ. In vitro studies of the foamy macrophage of postobstructive endogenous lipoid pneumonia in man. Am Rev Respir Dis 1972;106:69-78.
25) Bajanowski T, Ott A, Jorch G, Brinkmann B. Risk of aspiration in supine sleeping position? Eur J Pediatr 1995;154:S3.
26) Avital A, Shapiro E, Doviner V, Sherman Y, Margel S, Tsuberi M, et al. Polystyrene microspheres as a specific marker for the diagnosis of aspiration in hamsters. Am J Respir Cell Mol Biol 2002;27:511-4.
27) Avital A, Yoav S, Springer C. Charcoal is a sensitive, specific, and stable marker for the diagnosis of aspiration in hamsters. Pediatr Res 2002;51:397-401.
28) Epstein CE, Elidemir O, Colasurdo GN, Fan LL. Time course of hemosiderin production by alveolar macrophages in a murine model. Chest 2001;120:2013-20.