



Revista Internacional de  
**Acupuntura**

[www.elsevier.es/acu](http://www.elsevier.es/acu)



## Revisión

# Sistema circulatorio de Bonghan como una extensión de los meridianos de acupuntura<sup>☆</sup>



**Kwang-Sup Soh**

Laboratorio de Física Biomédica, Departamento de Física y Astronomía, Universidad Nacional de Seúl, Seúl, Corea del Sur

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 6 de febrero de 2018

Aceptado el 7 de febrero de 2018

On-line el 28 de marzo de 2018

#### Palabras clave:

Meridianos de acupuntura

Corpúsculo de Bonghan

Conducto de Bonghan

Cáncer

Regeneración

Azul tripán

### R E S U M E N

El sistema de Bonghan (BHS) es un sistema circulatorio recién descubierto, que corresponde a los clásicos meridianos de acupuntura, y fue descubierto a principio de la década de 1960 por B.H. Kim. A pesar de su potencial importancia en biología y medicina, ha sido ignorado u olvidado durante mucho tiempo. Recientemente se han confirmado la mayoría sus partes significativas, como el BHS dentro de los vasos sanguíneos y linfáticos, en la superficie de los órganos internos y en los ventrículos del cerebro. Para ello, fueron necesarios nuevos métodos y tecnología moderna porque B.H. Kim no describió sus métodos. Por ejemplo, entre otros métodos, el descubrimiento de un colorante específico para el BHS, azul tripán, fue una de las contribuciones más importantes y originales que hizo posible la observación del BHS. Con esta técnica, el BHS en el tejido adiposo se volvió trazable, y el BHS se descubrió en la fascia que rodeaba los tejidos tumorales: un hallazgo que podría tener una gran importancia en relación con problemas de salud graves de la sociedad moderna como la obesidad y el cáncer.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

### Bonghan circulatory system as an extension of acupuncture meridians

#### A B S T R A C T

The Bonghan system (BHS) is a newly-discovered circulatory system, which corresponds to classical acupuncture meridians and was discovered in the early 1960s by B.H. Kim. Despite its potential importance in biology and medicine, it has been ignored or forgotten for a long time. Only recently have most of its significant parts, such as the BHS inside blood or lymph vessels, on the surfaces of internal organs, and in brain ventricles, been confirmed. For this, novel methods using modern technology were necessary because B.H. Kim did not describe his methods. For example, among other methods, the discovery of a

#### Keywords:

Acupuncture meridian

Bonghan corpuscle

Bonghan duct

Cancer

Regeneration

Trypan blue

<sup>☆</sup> Este artículo es una traducción autorizada por la Medical Association of Pharmacopuncture Institute del artículo original en inglés publicado en *Journal of Acupuncture and Meridian Studies* en 2009 y cuya versión íntegra está disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2005-2901\(09\)60041-8](https://doi.org/10.1016/S2005-2901(09)60041-8)

Correo electrónico: [kssoh1@gmail.com](mailto:kssoh1@gmail.com)

<https://doi.org/10.1016/j.acu.2018.02.001>

1887-8369/© 2018 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

BHS-specific dye, trypan blue, was one of the most important original contributions that made BHS observation possible. With this technique, the BHS in adipose tissue became traceable, and the BHS was discovered on the fascia surrounding tumor tissues, a finding which may have great significance in relation to serious health problems in modern society, namely, obesity and cancer.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción

Los efectos terapéuticos de la acupuntura han aumentado su aceptación alrededor del mundo<sup>1-3</sup>, y se hace cada vez más imperativo dilucidar los mecanismos de los efectos de la acupuntura en términos de conceptos modernos y terminología. Por lo tanto, hay que preguntarse qué tienen de especial los puntos de acupuntura (PA) y los meridianos de acupuntura (MA), y qué los distingue de otras áreas vecinas de la piel. Si hay características especiales, ¿cómo hacer la punción o la aplicación de estimulación de los PA para que funcionen? Para responder estas preguntas, primero se debe investigar la estructura anatómica de los PA y los MA.

Heine observó que en los sitios de los PA existía un conjunto de vasos sanguíneos y nervios dentro de una lámina libre de mesénquima de conectivo que perforaba la fascia superficial que separa el tejido subcutáneo de los tejidos musculares<sup>4-6</sup>. Demostró una estructura similar a los MA en la fascia tendínomuscular del sistema de MA del pulmón<sup>7,8</sup>, información sustentada por otros reportes<sup>9-12</sup>. Estructuralmente, los PA son haces neurovasculares<sup>13-16</sup>, inserciones musculares<sup>17-20</sup>, y varios tipos de terminaciones nerviosas sensoriales<sup>21-23</sup>. Langevin observó que, aparentemente, más del 80% de los PA y el 50% de las intersecciones de los meridianos del brazo coinciden con los planos de tejido conectivo inter o intramusculares<sup>24-26</sup>. Jones<sup>27</sup> aplicó imágenes ultrasónicas para investigar los AP; Ifrim-Chen e Ifrim<sup>28</sup> intentaron teñir tanto los PA como los MA con azul alcian. Se puede encontrar una exhaustiva revisión de la caracterización del sistema de acupuntura en el trabajo de Van Wijk et al<sup>29</sup>. Hasta donde saben los autores, ninguna investigación ha revelado una estructura anatómica compatible con PA o MA que se conozcan en biología o medicina occidental. En este sentido, la afirmación de B.H. Kim es única; puesto que propone la existencia de un nuevo sistema circulatorio distribuido por todo el cuerpo: no solo en humanos, sino en todos los vertebrados.

El National Acupuncture Meridians Research Institute, liderado por B.H. Kim, publicó una serie de 5 informes sobre la estructura anatómica y fisiológica de los PA y los AM<sup>30-40</sup>, y un artículo de revisión en inglés disponible en la mayoría de las bibliotecas universitarias<sup>35</sup>. Un corpúsculo de Bonghan (BHC) y un conducto de Bonghan (BHD) corresponden a un PA y a un MA respectivamente. Los BHD están vinculados en su final, o en ambos extremos, a un BHC y el conjunto de estas estructuras forma este novedoso sistema circulatorio en todo el cuerpo.

El sistema circulatorio de Bonghan (BH) está compuesto por varias subredes que pueden categorizarse en: a) un BHC/BHD

superficial ubicado en la piel; b) un BHC/BHD intravascular que se extiende a lo largo del interior de las grandes venas, arterias y vasos linfáticos, flotando en el torrente sanguíneo y linfático, sin adherirse a las paredes del vaso; c) un BHC/BHD extravascular que corre a lo largo del exterior de los grandes vasos sanguíneos; d) un BHC/BHD en la superficie de los órganos que se extiende sobre varias superficies internas de estos; e) un BHC/BHD dentro de los órganos, localizado en el interior de varios órganos, y f) un BHC/BHD neural que se haya dentro del cerebro y la médula espinal, y se extiende a lo largo del exterior de los nervios periféricos.

Para examinar las funciones fisiológicas relacionadas, la primera necesidad es considerar el flujo de líquidos en la red de BHD. El análisis del líquido de BH fue realizado por Kim<sup>32</sup>, y los componentes más importantes incluyen ácido hialurónico, hormonas neurotransmisoras, hormonas como adrenalina y noradrenalina, aminoácidos y nucleótidos libres. La microcélula de BH o "sanal" (previamente llamado gránulo) es un cuerpo esférico, ovalado, con un diámetro de 1-2 μm que contiene uno o dos cromosomas envueltos con una fina membrana. Kim afirmó que el "sanal" desempeñaba un papel importante en la regeneración de tejidos dañados<sup>33,34</sup>. Otra función importante es la transmisión de señales eléctricas a través de la red de BHD; lo que podría sustentar un mecanismo basado en la estructura para el conocido fenómeno de bajas impedancias eléctricas en los PA<sup>36-38</sup>. Una función hipotética de los BHD es la propagación de la luz, la que podría explicar la casi instantánea sensación a través del cuerpo con la punción de un PA<sup>39</sup>.

Hasta hace poco, las afirmaciones de B.H. Kim no podían ser reproducidas o confirmadas porque el método de tinción para trazar e identificar los BHD no se había revelado. Por lo tanto, su trabajo ha sido menospreciado, y no ha habido otras investigaciones a excepción del caso del anatomista japonés Fujiwara<sup>40</sup>, quien, de hecho, fue capaz de reproducir parcialmente los resultados de B.H. Kim; aunque su trabajo no atrajo mucha atención.

Conviene recalcar que solo ha habido una serie de investigación histológica de PA que refuta las afirmaciones de B.H. Kim. Kellner examinó a fondo los PA de la piel y concluyó que no existían estructuras similares a los BHD<sup>41</sup>. Sin embargo, hay que ser cuidadoso al extraer conclusiones de la no observación con un método histológico; ya que un solo método puede no revelar todas las estructuras de un tejido. En este caso, es esencial usar la tinción apropiada para visualizar una estructura nueva como un BHC.

Desde el año 2002 se ha llevado a cabo una intensiva investigación del BHS en el Laboratorio de Física Biomédica de la Universidad Nacional de Seúl, respaldada por el Ministerio de Ciencia y Tecnología de Corea del Sur a través del programa

del National Research Laboratory. El primer objetivo fue detectar los BHD intravasculares en vasos sanguíneos y linfáticos de conejos, ratas y ratones. Luego, se buscaron BHD en las superficies de órganos internos y dentro de los ventrículos del cerebro y en el canal central de la médula espinal. En la actualidad se está desarrollando un método de identificación de BHD y BHC en la piel.

Se han desarrollado una serie de investigaciones para establecer la presencia de BHD y BHC y dilucidar sus detalles. Además de los procedimientos convencionales de tinción y la microscopía de luz, se han utilizado técnicas e instrumentos modernos que no estaban disponibles en el tiempo de B.H. Kim. Para estudiar su ultraestructura, se ha usado microscopía confocal de barrido láser<sup>42</sup>, varios tipos de microscopio electrónico, como el microscopio electrónico de barrido (SEM, *scanning electron microscopy*), crioescapeo (crio-SEM), SEM con haz de iones enfocados, y microscopía electrónica de transmisión (TEM) de alto voltaje<sup>43-45</sup>, microfotografía por rayos X<sup>46</sup>, y microscopía de fuerza atómica<sup>47</sup>. Además se han utilizado técnicas actualizadas, como las nanopartículas fluorescentes<sup>48-50</sup>, la inmunohistoquímica<sup>51,52</sup>, el análisis proteómico<sup>53</sup>, la técnica de ELISA para análisis hormonales<sup>54,55</sup> y los métodos electrofisiológicos<sup>56,57</sup>.

## Estudios recientes del sistema de Bonghan

### Conducto de Bonghan y corpúsculo de Bonghan intravascular

Se eligieron los BHD de la vena cava inferior de conejos y ratas como primer sitio de observación de las estructuras filiformes flotando en el torrente sanguíneo. La inyección intravenosa de una solución de dextrosa al 10% en la vena femoral izquierda fue la técnica clave desarrollada por el equipo para reemplazar la sangre con un líquido transparente mientras se retenía el BHD en el vaso sanguíneo para observar in situ con un microscopio estereoscópico<sup>58-60</sup>. Esta técnica tuvo una tasa de éxito muy baja, incluso para un microcirujano altamente capacitado, y se confundió con un fenómeno de coagulación con fibrina, en el que la coagulación de fibrina forma filamentos que no pueden distinguirse de los BHD con un estereomicroscopio o un microscopio de contraste de fases. La nueva contribución, que no se había descrito antes en el trabajo de B.H. Kim, fue encontrar un método para distinguir un BHD de los muy similares filamentos de fibrina. Esta técnica usó una tinción fluorescente con naranja de acridina para revelar núcleos en forma alargada, que son característicos de los BHD, pero que carecen de fibrina<sup>61,62</sup>. La [figura 1](#) muestra una micrografía de la muestra más larga jamás obtenida de un BHD intravascular de una arteria de rata obtenida mediante un método quirúrgico<sup>63</sup>.

Un método quirúrgico que contempló el corte de una parte de un vaso sanguíneo y la búsqueda del BHD en la muestra no tuvo éxito porque, aparentemente, el BHD se encogió y efectivamente desapareció. También falló una técnica de enfriamiento del vaso sanguíneo con nitrógeno líquido porque no fue posible identificar el BHD en el corte transversal



**Figura 1 – Imagen de microscopía de contraste de un conducto de Bonghan de una arteria de rata. Longitud total ~4 cm<sup>42</sup>.**

de un vaso sanguíneo congelado. En el año 2006 se ideó un nuevo método para revelar un BHD in vivo en la vena cava inferior de un ratón inyectando una tinción (azul alcian) en la vena femoral<sup>64</sup>. Otro método desarrollado para observar in vivo utilizó microscopía fluorescente y colorante fluorescente (naranja de acridina) inyectado por vía intravenosa<sup>65</sup>. Se observaron los BHC, pero requirió un análisis muy exhaustivo para su identificación<sup>66</sup>.

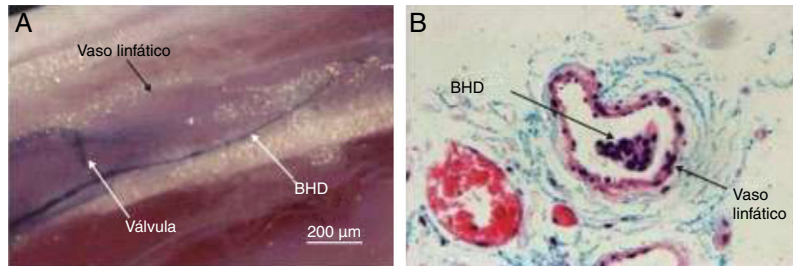
En la actualidad estos métodos para observar los BHD intravasculares no se han desarrollado totalmente; se necesita habilidad y suerte para obtener el resultado esperado. Existe la necesidad de desarrollar una nueva variedad de endoscopio intravascular para la observación de un BHD intravascular sin tinción.

### Conducto de Bonghan y corpúsculos de Bonghan linfáticos

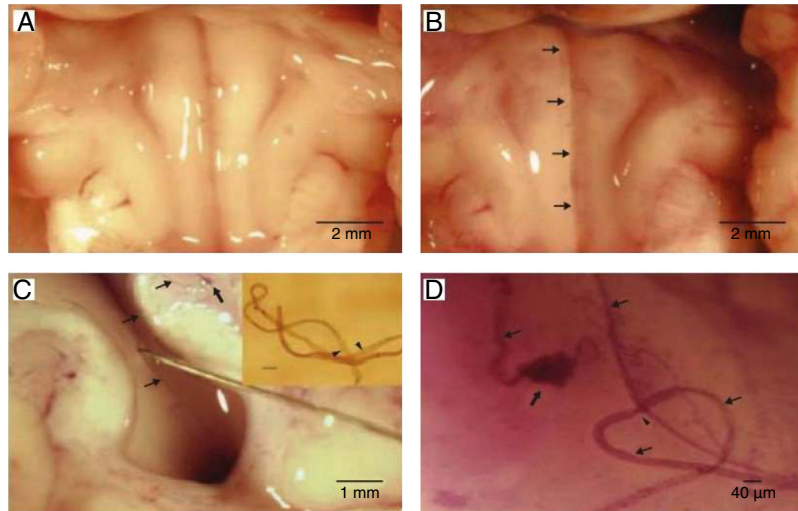
Como no es posible observar un BHD intravascular in situ en los vasos sanguíneos a causa de la sangre, podría ser beneficioso examinar vasos transparentes, como los vasos linfáticos. Se intentó detectar BHD en grandes vasos linfáticos mediante estereomicroscopía, pero solo permitió ver las válvulas linfáticas. Entonces se inyectaron varios tipos de colorantes químicos dentro de un vaso linfático o de un nodo y se pudo visualizar BHD in situ e in vivo. Se encontraron 3 tinciones diferentes efectivas preferentes para BHD alrededor del vaso linfático: verde janus B<sup>67</sup>, nanopartículas magnéticas fluorescentes<sup>48,49</sup>, y azul alcian<sup>46</sup>. La [figura 2](#) muestra un BHD linfático teñido con verde janus, flotando dentro de un vaso linfático de conejo.

El inconveniente de estos 3 métodos de inyección de agentes químicos en los vasos linfáticos es el potencial daño del BHD o que genere artefactos de imagen.

Se desarrolló un método óptico que mejora el contraste para la observación in vivo de los BHD que flotan dentro de vasos linfáticos de grueso calibre<sup>68</sup> y se capturó exitosamente imágenes que mostraban el movimiento de un BHD mientras el animal respiraba.



**Figura 2 – Conducto de Bonghan (BHD) dentro de un vaso linfático de conejo teñido con verde janus B<sup>43</sup>. A) BHD dentro de un vaso linfático. B) Corte transversal con tinción de hematoxilina-eosina.**



**Figura 3 – Conducto de Bonghan (BHD) en los ventrículos cerebrales de los conejos. Imágenes estereomicroscópicas en la parte inferior del cuarto ventrículo, debajo del cerebelo del mismo conejo, antes (A) y después (B) de la aplicación de hematoxilina. En la imagen A no se visualiza el BHD. No obstante, tras la tinción con hematoxilina y el lavado, en la imagen B surgen los BHD (flechas) cerca del surco. C) Imagen estereomicroscópica de un BHD (flecha) en un acueducto y en el tercer ventrículo del cerebro del conejo tras la tinción con hematoxilina y el lavado, alzado con una aguja para mostrar que flota en el líquido cefalorraquídeo. Recuadro: estructura filiforme del espécimen que muestra su naturaleza elástica. Las regiones superpuestas muestran su transparencia óptica. Presencia de 2 nodos (puntas de flecha). Escala, 60 μm. D) Imagen estereomicroscópica de un BHD (flecha) con un corpúsculo de Bonghan (flecha gruesa) y un nodo (punta de flecha). Extremo del corte del BHD en la parte frontal del tercer ventrículo<sup>50</sup>.**

### **Conducto de Bonghan y corpúsculo de Bonghan en la superficie interna de los órganos**

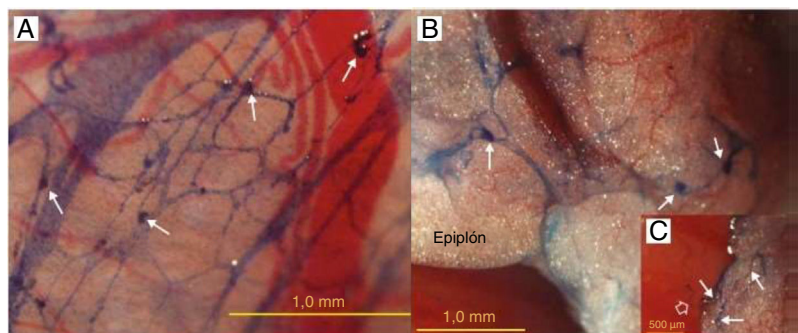
La red de BHC y BHD sobre la superficie de varios órganos internos debería ser una estructura fácilmente de confirmar, pero hay muchos obstáculos que impiden su visualización. Primero, los BHD son delgados y transparentes; por lo que es muy difícil verlos a ojo desnudo o con un microscopio quirúrgico de baja magnificación. Segundo, la fibrina coagulada del vaso sanguíneo durante la cirugía no se distingue de los BHD. Tercero, los tejidos de apariencia similar del peritoneo desgarrado o las cápsulas internas de los órganos no son fácilmente visibles sin un examen histológico. Y, por último, hay muchas dificultades para distinguir BHD en los vasos linfáticos<sup>42</sup>.

Una característica específica de los BHD es que no se encuentran adheridos a las superficies o a las cápsulas de los órganos internos, sino que se mueven libremente. Además, un

BHC podría estar conectado de manera doble o múltiple a los BHD. Algunas características histológicas importantes incluyen la presencia de una estructura de haz formada por varios ductillos y la distribución de núcleos con forma alargada alineados como líneas partidas. Se han realizado extensas investigaciones de la naturaleza funcional y morfológica de los BHD y BHC en la superficie de los órganos para determinar sus detalles estructurales y establecer en definitiva su existencia<sup>43-46</sup>.

Conducto de Bonghan y corpúsculo de Bonghan en el cerebro y médula espinal de conejos

Se observaron BHD de 20-40 μm de diámetro flotando en el líquido cerebroespinal de los ventrículos del cerebro y del canal medular central de un conejo. Se desarrolló una técnica efectiva usando hematoxilina para visualizar el BHD, y se confirmó la presencia de núcleos con forma alargada usando varios colorantes específicos para núcleos<sup>69</sup>. La figura 3 muestra la ubicación de los BHD sobre paredes ependimarias del



**Figura 4 – Red de conductos de Bonghan (BHD) reveladas mediante tinción de azul tripán. A) Red de BHD en el peritoneo visceral alrededor del estómago y cerca del bazo de una rata. Varios pequeños BHC en puntos de intersección (flechas). Los capilares sanguíneos no están teñidos. B) Red de BHD en el epiplón entre el estómago y el intestino delgado. Tres pequeños corpúsculos en las intersecciones de los BHD (flechas). C) Recuadro: otra parte del mismo epiplón como en la imagen A; BHD flotando (flecha abierta) conectado con BHD (flechas) en el epiplón, que muestra los BHD como parte de una gran red de BHD libres y móviles en la superficie de los órganos internos.**

tercer ventrículo del cerebro y del acueducto cerebral en un conejo.

### Azul tripán como tinción específica para conducto de Bonghan

Hallar el colorante apropiado fue el factor más crítico en el redescubrimiento del BHS. Sin una tinción adecuada, probablemente el tejido diana no se habría visualizado, incluso con una gran magnificación. El colorante secreto usado por B.H. Kim cuando descubrió la red de BHD no se ha identificado<sup>31,32</sup>. Se ha encontrado una gran variedad de materiales —como azul de metileno, verde metilo, verde janus B, azul alcían, hematoxilina, hematoxilina cromada y nanopartículas fluorescentes— que solo han resultado parcialmente útiles. Recientemente se ha encontrado un colorante eficaz, el azul tripán, que es más afín con BHD que con vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios músculos y tejido adiposo. El azul tripán es útil para membrana vitreoretiniana en cirugía oftalmológica<sup>70</sup> y se usa mayoritariamente para discriminar entre células vivas y muertas. Curiosamente, tiñe los BHD pero no otros tipos de tejidos, in vivo e in situ; por lo que ha resultado muy útil para detectar BHD en varias muestras.

El uso de azul tripán ha permitido hacer nuevas y significativas contribuciones, incluyendo, por primera vez, el hallazgo de una red de BHD en el epiplón de una rata<sup>71</sup>. Es notable la red de BHD superpuesta en la superficie del epiplón y del peritoneo cerca del bazo (fig. 4).

Como los BHD a menudo entran al tejido adiposo alrededor de los órganos internos, no se pudieron rastrear en estos tejidos porque no eran visibles. Los BHD y los BHC en tejido adiposo no se tiñen con el azul tripán<sup>72</sup>, y sería interesante la determinación de su posible relación con la obesidad.

Lo más notable es que se pudo detectar BHD en la fascia que rodea el tejido tumoral utilizando un método in situ con azul tripán como colorante. Esto se discutirá más adelante.

## Importancia médica y biológica

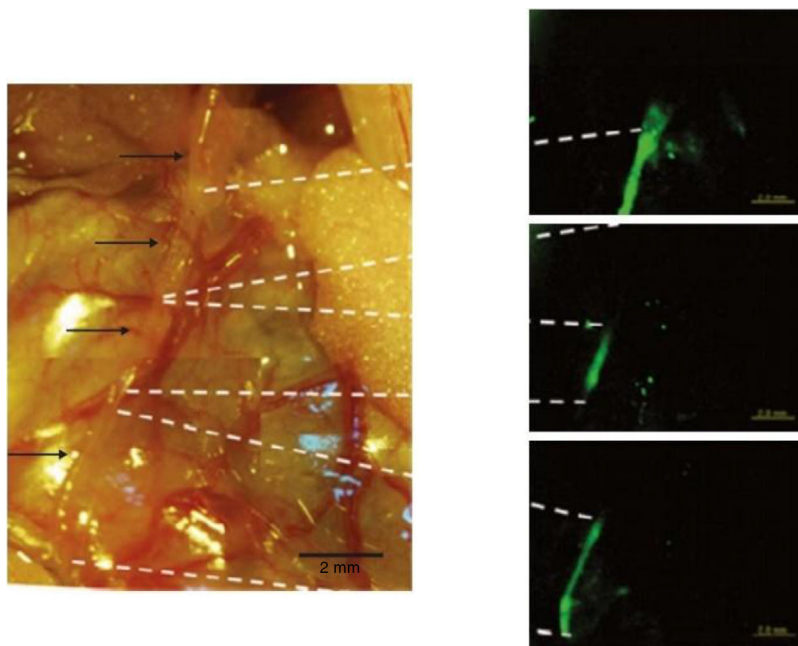
### Función circulatoria

La necesidad morfológica del BHS de tener una función circulatoria es la presencia de canales en el BHD. Esta condición se confirmó usando un método de tinción con HE (hematoxilina-eosina)<sup>73</sup> y varios tipos de microscopía electrónica como la TEM, la TEM de alto voltaje, la crio-SEM y la FIB-SEM (microscopía electrónica con haz de iones)<sup>43-45</sup>. La evidencia a nivel celular fue la ubicación de las células endoteliales que comprenden el límite interno de los conductillos en el BHD, también confirmado por TEM<sup>73</sup>, y un estudio inmunohistoquímico que respaldó la existencia de células endoteliales<sup>52</sup>.

Una prueba directa para demostrar el flujo de líquido, realizada mediante la inyección de nanopartículas fluorescentes en la superficie de un órgano interno (fig. 5), reveló flujo en un solo sentido, que es lo esperable en un sistema circulatorio<sup>74</sup>. La velocidad promedio del flujo, recientemente medida a través de la inyección de azul alcían dentro de un BHC en la superficie del hígado de un conejo<sup>44</sup>, fue de  $0,3 \pm 0,1$  mm/s, tal como lo describió Kim<sup>32</sup>. El flujo de líquido a través de los BHD desde la piel y hacia los órganos internos se observó inyectando hematoxilina cromada y nanopartículas fluorescentes en la piel cerca del testículo de una rata.

### Electrofisiología: excitabilidad

La función circulatoria del BHS también requiere la presencia de células excitables, que puede comprobarse mediante experimentos electrofisiológicos. Un BHC obtenido de la superficie intestinal de una rata se sumergió en una solución de Locke y se insertó un electrodo microcapilar en la membrana celular del conducto, que mostró una caída abrupta del potencial eléctrico de 40 mV en relación con el potencial de referencia, seguido de ráfagas irregulares de picos evocados espontáneamente en el potencial de reposo, con una duración promedio de 16 s (fig. 6). El potencial de reposo y el patrón irregular



**Figura 5 – La imagen de la izquierda muestra un conducto de Bonghan (flechas) en un intestino delgado de rata. Las imágenes de la derecha muestran un flujo de nanopartículas tras la inyección en el punto indicado en la línea discontinua superior. Durante los primeros 4 min, las nanopartículas se mantuvieron en la primera región; después (tras 12 min) se movieron a la mitad y, finalmente, se movieron a la tercera región en 18 min. Velocidad de 0,6 mm/min en una sola dirección<sup>74</sup>. La velocidad fue extremadamente lenta debido a las condiciones de temperatura y humedad. El tiempo desde la incisión en el abdomen hasta la inyección de nanopartículas fue de alrededor de 60 min. Movimiento peristáltico casi detenido. Con mejores métodos, incluyendo mejores condiciones de viabilidad y lapsos de tiempo más cortos, se logró medir mejor la velocidad del fluido (0,3 mm/s)<sup>44</sup>.**

de picos muestra la excitabilidad de las células en el BHC<sup>56</sup>. Adicionalmente, los picos irregulares muestran un parecido a ciertos patrones de disparo de neuronas<sup>75</sup>, lo que sugiere una transmisión señal de tipo nervioso en el BHS.

La naturaleza de las células excitables se determinó mediante el estudio de los efectos de la estimulación con acetilcolina y pilocarpina, y los resultados mostraron hiperdepolarización, tal como se ha observado en el músculo liso vascular. Un factor crítico a nivel molecular como sistema son los canales de calcio, necesarios para el movimiento contráctil de la célula en el BHC. Se comprobó que los BHC tenían estos canales experimentando con un bloqueador de calcio del tipo nifedipino<sup>57</sup>.

En conclusión, los resultados electrofisiológicos respaldan la función circulatoria del BHS. La electrofisiología del sistema puede proporcionar una base científica para la ampliamente usada terapia de electroacupuntura<sup>76</sup> y para las propiedades eléctricas de los PA, que se han estudiado durante muchos años en todo el mundo.

#### **Rutas hormonales, función inmunológica y hematopoyesis**

Se midió la noradrenalina y la adrenalina en el BHC de la superficie de un órgano de conejo, usando un kit ELISA CatCombi y se identificaron células cromafines secretoras de noradrenalina y adrenalina<sup>54,77</sup>. La presencia de células cromafines en el PA VC 12 también se exploró mediante una técnica inmunohistoquímica y los resultados obtenidos fueron consistentes

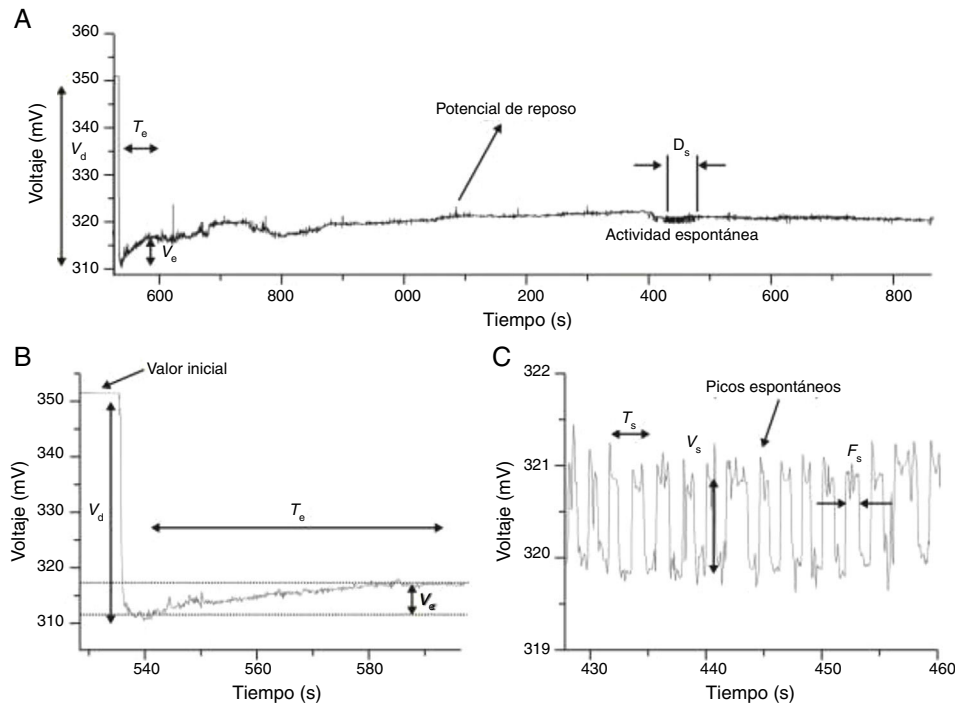
con las afirmaciones de B.H. Kim<sup>32,55</sup>. Estos resultados proporcionaron una nueva visión de los PA como órganos endocrinos catecolamínicos, además de la ya conocidas médula adrenal, fibras posganglionares y las células de Merkel<sup>78</sup>.

A menudo se han descrito mejoras en la función inmunológica y efectos beneficiosos sobre la inflamación después del tratamiento con acupuntura<sup>2</sup> y se ha reportado abundancia de mastocitos en los PA<sup>79</sup>. Se ha observado que los BHC y los BHD de la superficie del órgano contenían un número significativo de monocitos, eosinófilos, mastocitos y macrófagos<sup>43,45,73</sup>. La abundancia de este tipo de células en el BHD respalda la evidencia de los efectos terapéuticos relacionados con el tratamiento de acupuntura y la afirmación de B.H. Kim de que el BHD de la superficie del órgano es una extensión del sistema de MA clásico.

Se sabe que las células sanguíneas se generan en la médula ósea, pero B.H. Kim afirmó que el BHD intravascular es otro órgano hematopoyético<sup>34</sup>. De hecho, se ha observado que el BHD se va haciendo más grueso y, con ello, más fácil de detectar cuando se indujo anemia mediante una inyección de fenilhidrazina. Asimismo, se observaron muchos glóbulos rojos en estados tempranos de maduración en los BHC de la superficie del órgano cuando se indujo la anemia.

#### **Regeneración y sanal (microcélula)**

En el cuarto artículo de B.H. Kim se reportó la regeneración de células hepáticas dañadas<sup>33</sup>. Considerando esta afirmación,



**Figura 6 – A) Potencial de reposo y actividad eléctrica espontánea de una célula de un corpúsculo de Bonghan (BHC). B) En el momento de la inserción microcapilar en la membrana del BHC, el potencial cayó abruptamente alrededor de  $38 \pm 15,5$  mV ( $n = 11$ ) desde el potencial de referencia.  $V_d$  es la caída del potencial; potencial aumentado lentamente a un potencial de reposo de  $10,5 \pm 8,4$  mV ( $n = 11$ ).  $V_e$  es un pequeño aumento (línea punteada).  $T_e$  es el tiempo de aumento:  $18,1 \pm 14,0$  s ( $n = 11$ ). El potencial de reposo se mantuvo estable con pequeñas fluctuaciones de fondo; la actividad irregular de picos espontáneos en el potencial de reposo se alzaron durante el tiempo de estimulación ( $D_s$ ) de alrededor de  $16,6 \pm 14,9$  s ( $n = 11$ ). C) La actividad espontánea registrada en un período expandido en tiempo y voltaje. La amplitud promedio ( $V_s$ ) fue de  $1,2 \pm 0,6$  mV ( $n = 11$ ) y el período promedio ( $T_s$ ) de  $0,8 \pm 0,6$  s ( $n = 11$ ). Los picos tenían un ancho medio promedio ( $F_s$ ) de  $0,27 \pm 0,19$  s ( $n = 11$ )<sup>57</sup>.**

se planteó la hipótesis de que podría haber células madre adultas en los BHC y, para verificarlo, se tiñeron cortes de BHC y BHD con anticuerpos marcadores de células madre. Se observó que los marcadores de células madre mesenquimales se expresaban con fuerza, de forma similar a la médula ósea. Las matrices extracelulares también fueron consistentes con la expresión de células madre<sup>52</sup>.

Los análisis proteómicos de los tejidos y del líquido del BHD en la superficie del intestino del conejo indicaron la existencia de proteínas relacionadas con el reclutamiento de células madre mesenquimales<sup>80</sup>, los procesos celulares en estas células (ezrina, actina y miosina)<sup>81</sup> y su diferenciación desde células madre mesenquimales a miofibroblastos (actina alfa de músculo liso y CD147)<sup>82</sup>. Estos perfiles proteicos sugirieron que los BHD ubicados en la superficie de los órganos tienen un papel como depósitos temporales y puntos de diferenciación de células madre para la regeneración tisular.

Se han regenerado células hepáticas dañadas gracias al conjunto de *sanales* que migraron a través de los BHD<sup>33</sup>. Este proceso no se ha investigado específicamente, pero se han realizado algunos estudios básicos con microcélulas de BH, revelando que su movimiento parecía ser browniano, pero también mostraron algunas interacciones de luz peculiares.

Su velocidad promedio no se vio afectada por la luz visible, pero se incrementó significativamente mediante luz UV-A

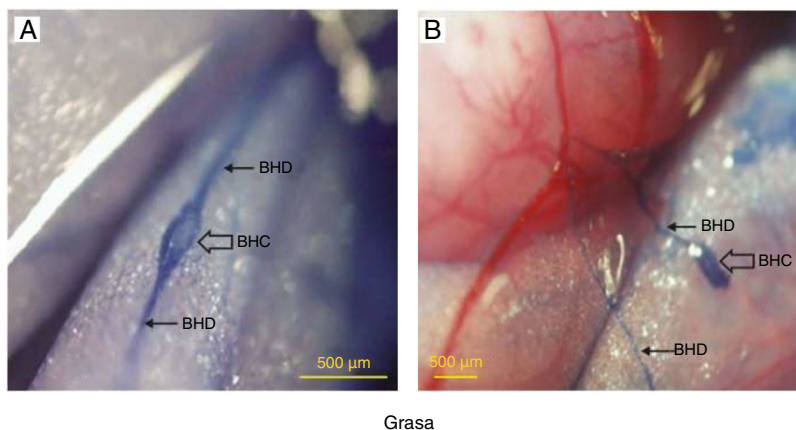
(360 nm)<sup>83,84</sup>. La presencia de ADN dentro del *sanal* se identificó usando varios tipos de tinción específica de ADN —como la reacción de Feulgen<sup>42</sup>, DAPI y PI— y el estado del ADN se mostró fragmentado por un ensayo TUNEL<sup>85</sup>.

La morfología detallada de los *sanales* se estudió mediante imágenes topográficas e imágenes de señales de error a partir de microscopía de fuerza atómica; sus propiedades mecánicas se investigaron con microscopía de fuerza modulada, y su caracterización eléctrica, con microscopía de fuerza electrostática<sup>47</sup>. Se han realizado más investigaciones de la morfología de racimo de los *sanales* con microscopía de fuerza atómica y SEM<sup>86</sup>. La medición del módulo de elasticidad de Young indicó que los *sanales* tienen membranas mucho más rígidas que las de cuerpos apoptóticos, similares en tamaño<sup>87</sup>.

### Obesidad y cáncer

La obesidad es uno de los mayores problemas de salud en las sociedades modernas. Incidentalmente, los BHD y los BHC están bien desarrollados en los tejidos adiposos visualizados con azul tripán (fig. 7)<sup>72</sup>. Aparentemente, las grasas almacenadas y el BHS tienen mucha relación; lo que requiere una investigación más detallada en el futuro.

Buikis et al<sup>88</sup> observaron que las microcélulas en ciertos tumores habían crecido rápidamente y se habían transfor-



Grasa

**Figura 7 – Tinción de azul tripán de conducto de Bonghan (BHD) y corpúsculo de Bonghan (BHC) dentro de los tejidos adiposos. A) Un BHC y un BHD conectado dentro del tejido adiposo alrededor del intestino delgado de una rata. B) Un BHC y dos BHD cercanos en el mismo intestino delgado de la rata. Vasos sanguíneos y tejidos adiposos no teñidos.**

mado en células jóvenes e indiferenciadas y denominaron “esporosis” a este mecanismo citológico de inmortalidad de estas poblaciones de células tumorales. Se cree que su esporosis *microcelular* no es sino uno de los procesos de proliferación del *sanal* que ocurre normalmente en el BHS<sup>39,89</sup>. Esta suposición fue fortalecida con información proteómica<sup>53</sup>, que muestran una abundancia de procesos basados en carbohidratos asociados con células madre<sup>90,91</sup>, células cancerosas<sup>92</sup> y células mieloides diferenciadas<sup>93</sup>.

Se ha encontrado una relación directa del BHS con los tejidos tumorales. Se inyectaron células cancerosas por vía subcutánea dentro de los BHD y BHC de un ratón calvo, observados en la fascia que envuelve un tumor que crecía en la piel<sup>94</sup>, visualizado mediante el uso del método de tinción con azul tripán (fig. 8). Se planteó la hipótesis de que, además de las ya conocidas rutas en vasos sanguíneos y linfáticos, el BHD conectado al tejido canceroso es una nueva ruta de metástasis. En tal caso, el BHS podría desempeñar un doble papel: una vía de metástasis, así como una vía de control del tejido tumoral a través del tratamiento con acupuntura, porque el BHS es una extensión del sistema de meridianos.

## Discusión

Algunas de las preguntas más frecuentes se tratan aquí con respuestas breves. Cualquier otra pregunta es bienvenida. La dirección de correo electrónico es kssoh1@gmail.com. La página principal es <http://77kmc.snu.ac.kr>.

### Conducto de Bonghan intravascular

1. ¿Por qué el BHD intravascular no fue observado o notado por cirujanos o investigadores en sangre o en vasos sanguíneos?

De hecho, estructuras filiformes se observan comúnmente en los eventos de apertura de vasos, pero pueden confundirse con haces de fibrina. En una intervención quirúrgica, con vasos sanguíneos abiertos, los haces de fibrina forman con la sangre coagulada una estructura similar muy difícil de discernir de

un BHD intravascular, incluso con microscopía ordinaria o de contraste de fase. Para empeorar la situación, la fibrina tiene una fuerte afinidad por los BHD intravasculares y lo encubre si hay daño grave del vaso sanguíneo. La auténtica contribución de nuestro grupo aquí fue el desarrollo de imágenes con naranja de acridina fluorescente para revelar la distribución de los núcleos y distinguir claramente los BHD intravasculares de los haces de fibrina (fig. 9).

2. ¿Por qué el BHD intravascular es difícil de observar *in situ* e *in vivo*?

El BHD intravascular es difícil de observar porque es una estructura filiforme, delgada (~20 μm de diámetro), transparente, que flota dentro de un torrente sanguíneo opaco, por lo que requiere una técnica de tinción para poder ser visualizada.

En este caso se desarrolló un método de observación *in vivo* e *in situ* mediante una inyección de azul alcian<sup>64</sup>, pero la tasa de éxito fue baja y dependió de las habilidades del investigador.

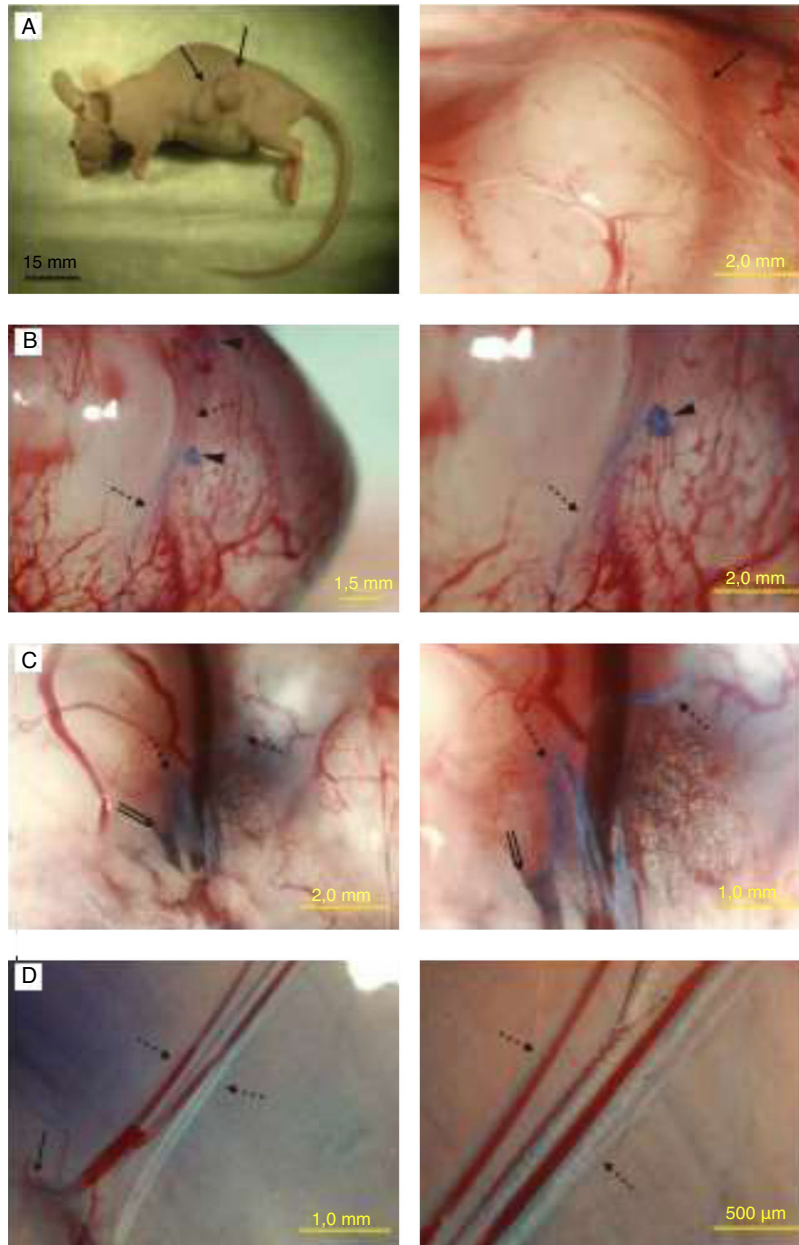
3. ¿Cómo descubrió B.H. Kim el BHD intravascular?

Según su informe, inyectó un determinado colorante azul en un PA y luego observó el BHD intravascular *in vivo* e *in situ* en grandes vasos, lo que sugiere que no solo encontró el BHD intravascular, sino que también estableció la función circulatoria de los MA y del BHD intravascular. Sin embargo, no presentó otros detalles importantes sobre materiales y métodos y, desde entonces, nadie ha reproducido sus técnicas. Ahora, nuestro equipo solo ha podido teñir el BHD intravascular mediante la inyección de azul alcian en un vaso sanguíneo, no en los PA.

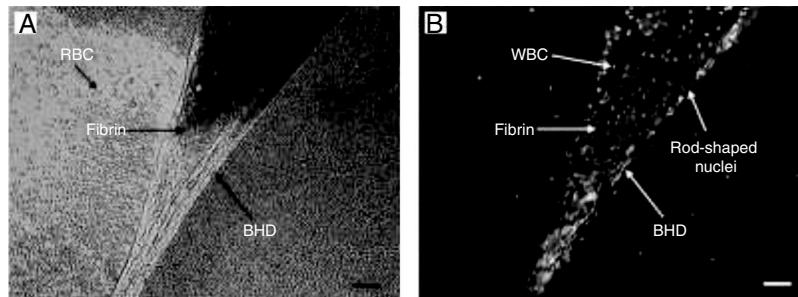
4. ¿Cuáles son las funciones del BHD intravascular?

De acuerdo con la afirmación de B.H. Kim, el papel principal del BHD intravascular es la hematopoyesis, pero quizás existen otras funciones circulatorias a través de bioquímicos importantes como las hormonas y los materiales de regeneración tisular. Kim también señaló que, en el desarrollo temprano del desarrollo del huevo de gallina, se formó primero el BHD





**Figura 8 – Visualización de un sistema de Bonghan en la fascia que rodea el tejido tumoral de la piel del ratón. A) Imágenes de tejido tumoral (flechas). Panel izquierdo: imagen de un ratón con 2 tejidos tumorales crecidos durante 2 semanas tras la inoculación con células cancerosas de pulmón humano. Panel derecho: parte de la superficie de tejido tumoral tras la resección de la piel. Presencia del sistema de Bonghan apenas perceptible. B) La tinción con azul tripán in situ reveló conductos de Bonghan (flechas punteadas) y corpúsculos de Bonghan (puntas de flecha) en la fascia del tejido tumoral. Panel derecho: ampliación del panel izquierdo. El azul tripán no tiñó los vasos sanguíneos. C) Muestra de múltiples conductos de Bonghan (flechas punteadas) en la superficie de la fascia del tejido tumoral. Panel derecho: ampliación del panel izquierdo que muestra un haz de conductos de Bonghan que entra notoriamente en la capa de grasa cercana (flecha doble). D) La técnica de azul tripán reveló conductos de Bonghan (flechas punteadas) a lo largo del haz de vasos sanguíneos y nervios. Panel derecho: ampliación que muestra claramente el conducto a lo largo del vaso sanguíneo. Conjunto de vasos sanguíneos y nervios que conecta el tejido tumoral (flecha) de la esquina inferior izquierda con la piel exterior. Muestras A, B, C y D de diferentes ratones<sup>94</sup>.**



**Figura 9 – A) Estructura tipo haz con envoltura de fibrina observada en una diapositiva mediante microscopia de contraste de interferencia diferencial. La fibrina y el conducto de Bonghan (BHD) apenas se distinguían y los glóbulos rojos (RBC, red blood cells) se dispersaban alrededor. Escala, 50  $\mu\text{m}$ . B) Estructura tipo haz con envoltura de fibrina observada mediante el método de fluorescencia naranja de acridina. Puntos dispersos: glóbulos blancos (WBC, white blood cells). Núcleos con forma alargada de la estructura tipo haz (rod-shaped nuclei). Se distingue claramente la fibrina del BHD. Escala, 50  $\mu\text{m}$ <sup>65</sup>.**

intravascular y después se formaron los vasos sanguíneos alrededor del BHD intravascular.

##### 5. ¿En qué vasos sanguíneos se observaron los BHD intravasculares?

Los BHD intravasculares se observan en grandes arterias y venas, dentro del corazón y en grandes vasos linfáticos. En este laboratorio, se detectaron los BHD intravasculares en arterias y venas abdominales, venas femorales, venas hepáticas, venas renales y en grandes vasos linfáticos cerca de la vena cava inferior. Los BHD intravasculares están supuestamente conectados con otros BHD extravasculares y salen de los vasos a través de sus paredes: una observación rara<sup>68</sup>. Aparentemente, los BHD intravasculares no existen en capilares y pequeños vasos linfáticos. Los sujetos de estudio fueron conejos, ratas y ratones.

##### 6. ¿Qué les pasaría a los BHD intravasculares durante la cirugía?

El BHD intravascular es un tejido elástico y, una vez roto, se enrosca y contrae. Durante cualquier cirugía, el BHD intravascular podría romperse y luego crecer rápidamente para restaurar la red. Si por alguna razón el BHD intravascular no se restaura, la recuperación posquirúrgica podría obstaculizarse o podrían persistir algunos efectos secundarios. No obstante, ni B.H. Kim ni nadie más describió el proceso de recuperación.

#### Acupuntura y el sistema de Bonghan superficial

##### 1. ¿Por qué es difícil observar los BHD correspondientes a los MA?

El tamaño de un BHD no es muy pequeño ( $\sim 30 \mu\text{m}$  de diámetro), pero se requiere una tinción para la detección, tanto in situ como en una muestra histológica. Por ejemplo, en la piel existe una gran cantidad de capilares linfáticos; aunque no fue posible visualizarlos hasta hace relativamente poco tiempo. Sin agentes de visualización, los análisis histológicos no mostraron capilares linfáticos en la piel. Igualmente, sin un agente de visualización, los BHD son difíciles de detectar y hasta ahora no se conocía un colorante específico para el BHD.

##### 2. ¿Qué ocurre con los BHC? ¿Ya que el diámetro de un BHC es $\sim 1,0 \text{ mm}$ , no debiera poder ser visto con un microscopio?

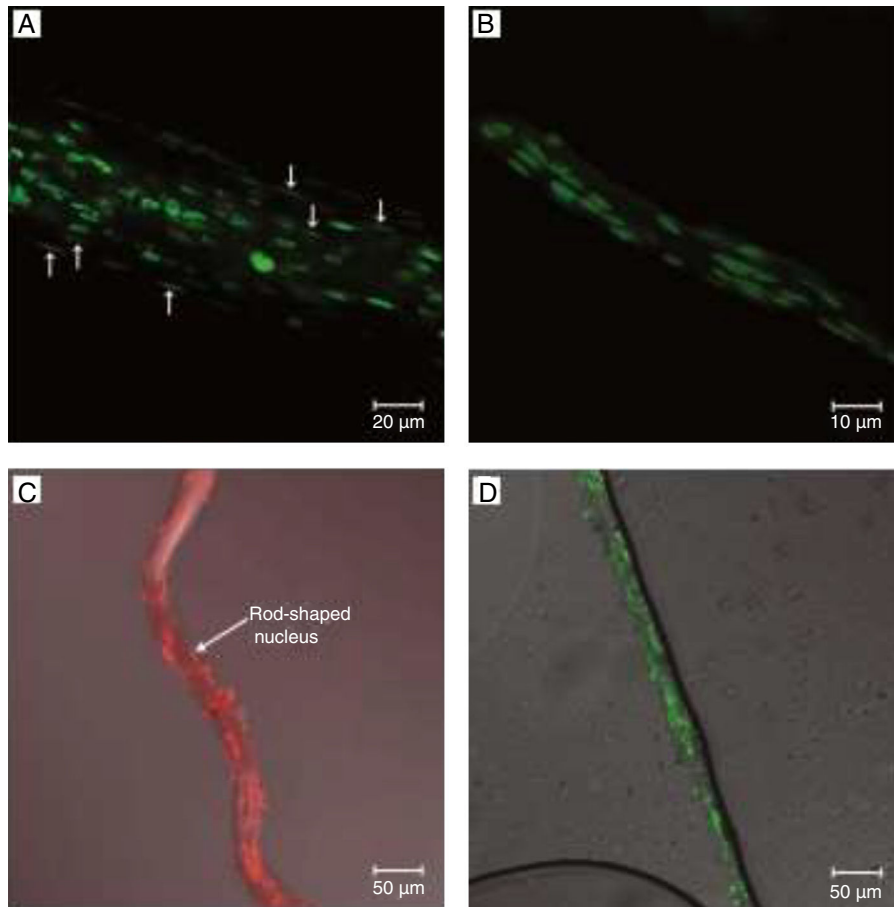
Se examinó una muestra de piel que incluía un área de acupuntura y un estudio histológico usando el grosor usual de  $10 \mu\text{m}$ , y la tinción con HE no reveló una estructura detectable. Esta técnica requiere habilidad y una enorme cantidad de tiempo y trabajo porque una muestra de  $1 \text{ mm}$  de espesor produce 100 secciones para examinar. Se requieren al menos  $5\text{-}10 \text{ mm}$  de espesor para no perder los PA. Además, los artefactos se introdujeron fácilmente; de modo que solo los observadores con el entrenamiento y conocimientos adecuados pudieron discernir la estructura que se deseaba observar. Por lo tanto, no se pudo aplicar la técnica de sección semidelgada y, sin imágenes de microscopia de luz semidelgada, es virtualmente imposible aplicar el método TEM ultradelgado ( $10 \text{ nm}$  de grosor). En su lugar, es necesario desarrollar un nuevo método usando cortes gruesos ( $100\text{-}150 \mu\text{m}$ ) con inmunohistoquímica y MPCLSM (microscopia confocal de barrido láser multifotónico). El uso de este método permitió visualizar un plexo de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas en los PA, pero no se visualizaron los BHD porque los anticuerpos para BHD todavía no se conocen o no están disponibles.

##### 3. ¿Cuál es el factor crítico en la identificación de los BHC?

Una característica crítica y característica es la presencia de células cromafines cerca del centro del BHC. Estas células secretan adrenalina y noradrenalina, cuyos principales tejidos endocrinos son la médula adrenal y los ganglios posteriores de un nervio. B.H. Kim reportó la presencia de células cromafines se pudo confirmar la presencia de estas células en un BHC en la superficie de un órgano interno y en el PA VC (Vaso de la Concepción) de 12 conejos<sup>55</sup>.

Otra característica de los BHC es una capa externa de músculo liso. Se están llevando a cabo experimentos para visualizar esta capa, lo que podría definir al BHC como una estructura de piel separada.

Una tercera característica es un haz de BHD y vasos sanguíneos insertos en el fondo del BHD que se conectan con los BHC vecinos. La identificación detallada de estos BHD requiere imágenes TEM, que a su vez serán realizables con la acumulación de suficiente experiencia con BHC.



**Figura 10** – Imágenes microscópicas con barrido láser confocal de conductos de Bonghan (BHD) que muestran núcleos en forma de bastoncillo (flechas) distribuidos en forma de líneas discontinuas. A) BHD teñida con YoYo-1, un colorante específico de ADN, después de la eliminación del vaso linfático de conejo inyectado con azul alcian<sup>46</sup>. B) BHD teñido con naranja de acridina, un colorante específico de ADN, después de la extracción de un vaso linfático de conejo inyectado con verde janus B<sup>67</sup>. C) El BHD se tiñó usando una reacción de Feulgen, un colorante específico de ADN, después de la eliminación de las superficies de los órganos de conejo<sup>42</sup>. D) El BHD se tiñó con naranja de acridina después de eliminar la vena cava caudal del conejo<sup>61</sup>. Formas, longitudes y distribuciones de los núcleos alargados (*rod-shaped nuclei*) similares entre sí en todos los casos; lo que sugiere que los BHD de los vasos linfáticos, los vasos sanguíneos y las superficies de los órganos pertenecen al mismo sistema.

*¿Qué criterio simple se puede utilizar para distinguir un conducto de Bonghan de otra estructura de apariencia similar en transparencia y forma de fibras?*

Un simple pero efectivo criterio es observar la distribución de los núcleos en forma de estructura de fibras. Los núcleos estaban distribuidos en hilos y alineados en líneas discontinuas (fig. 10).

*¿Cuáles son las características histológicas que distinguen un conducto de Bonghan de un vaso linfático, un vaso sanguíneo o un nervio?*

Las características histológicas y ultraestructurales se compararon en detalle en otro trabajo<sup>73</sup>. En resumen, un BHD es un haz de muchos túbulos intercalados con fibrina, mientras que un vaso sanguíneo o linfático es un único tubo que puede ser grande o pequeño.

*¿Qué técnica es fácil para detectar un conducto de Bonghan in situ en una fascia alrededor de varios tejidos como el hígado, estómago, intestino, corazón, cerebro o tejidos tumorales?*

Una técnica fácil para detectar un BHD es extender y lavar el azul tripán en la superficie de la fascia, permitiendo que los BHD emerjan como haces teñidos de azul<sup>71</sup>.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Agradecimientos

Esta investigación recibió el apoyo del National Research Laboratory (n.º ROA-2003-000-10371-0) del Ministerio de Educación,

Ciencia y Tecnología de Corea del Sur y de una “Systems Biology Infrastructure Establishment Grant” del Instituto de Ciencia y Tecnología de Gwangju.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Foster JM, Sweeney BP. The mechanisms of acupuncture analgesia. *Br J Hosp Med.* 1987;38:308–12.
2. Son Y, Park H, Kwon O, Jung S, Shin H, Lim S. Antipyretic effects of acupuncture on the lipopolysaccharide-induced fever and expression of interleukin-6 and interleukin-1 beta mRNAs in the hypothalamus of rats. *Neurosci Lett.* 2002;19:45–8.
3. Libert C. A nervous connection. *Nature.* 2003;421:328–9.
4. Heine H. Anatomical structure of acupoints. *J Tradit Chin Med.* 1988;8:207–12.
5. Heine H. Morphologie der ohrakupunkturpunkte. *Dtsch Zschr Akup.* 1993;36:99–103.
6. Heine H. Der akupunkturpunkt—ein meridianorgan. *Dtsch Zschr Akup.* 1996;39:75–80.
7. Heine H. Zur morphologie der akupunkturpunkte. *Dtsch Zschr Akup.* 1987;30:75–9.
8. Heine H. Functional anatomy of traditional Chinese acupuncture points. *Acta Anat.* 1995;152:293–7.
9. Zerlauth B, Böheim C, Moriggl B. Histologie der akupunkturpunkte. *Dtsch Zschr Akup.* 1992;35:34–8 [In German].
10. Egerbacher M. Veterinaeakupunktur. Anatomische und histologische Struktur ausgewählter Akupunkturpunkte bei Rind und Hund. *Dtsch Zschr Akup.* 1993;36:75–80.
11. Draempehl D, Ottensmeier A, Kleinpeter A, Kiupel M. Morphologische Untersuchungen an den Akupunkturpunkten und Meridianen bei Katzen und Hunden. *Dtsch Zschr Akup.* 1993;36:104–9.
12. Zhang B. Studies on the morphology and function of meridian lines with reference to neurogenic inflammation by ICR mouse. *Dtsch Zschr Akup.* 1996;39:29–38.
13. Stecco L. *La Manipolazione Neuroconnettivale. Disfunzioni segmentarie dell'apparato locomotore.* Roma: Marrapese; 1996.
14. Rabischong P, Niboyet JE, Terral C, Senelar R, Casez R. Bases experimentales de l'analgésie acupuncturale. *Nouv Presse Med.* 1975;4:2021–6.
15. Senelar R. Les caractéristiques morphologiques des points chinois. En: *Nouveau traité d'acupuncture.* Paris: Maisonneuve; 1979.
16. Bossy J. Morphological data concerning the acupuncture points and channel network. *Acup Electrother Res.* 1984;9:79–106.
17. Liu KY, Varela M, Oswald R. The correspondence between some motor points and acupuncture loci. *Am J Chin Med.* 1975;3:347–58.
18. Gunn CC, Ditchburn FG, King MH, Renwick GJ. Acupuncture loci: a proposal for their classification according to their relationship to known neural structures. *Am J Chin Med.* 1976;4:183–95.
19. Dung HC. Anatomical features contributing to the formation of acupuncture points. *Am J Acupunct.* 1984;12:139–43.
20. Pan C, Zhao A. *Moxibustion and Acupuncture Anesthesia.* En: *Research on Acupuncture.* New York: Springer-Verlag; 1988.
21. Ciczek LS, Szopinski J, Skrzypulec V. Investigations of morphological structures of acupuncture points and meridians. *J Trad Chin Med.* 1985;5:289–92.
22. Wang K, Liu J. Needling sensation receptor of an acupoint supplied by the median nerve—studies of their electrophysiological characteristics. *Am J Chin Med.* 1989;17:145–55.
23. Li A, Zhang J, Xie Y. Human acupuncture points mapped in rats are associated with excitable muscle/skin-nerve complexes with enriched nerve endings. *Brain Res.* 2004;1012:154–9.
24. Langevin HM, Yandow JA. Relationship of acupuncture points and meridians to connective tissue planes. *Anat Rec B New Anatomist.* 2002;269:257–65.
25. Langevin HM, Churchill DL, Cipolla MJ. Mechanical signaling through connective tissue: a mechanism for the therapeutic effect of acupuncture. *FASEB J.* 2001;15:2275–82.
26. Langevin HM, Churchill DL, Wu J, Badger GJ, Yandow JA, Fox JR, et al. Evidence of connective tissue involvement in acupuncture. *FASEB J.* 2002;16:872–4.
27. Jones JP. Ultrasonic acupuncture and the correlation between acupuncture stimulation and the activation of associated brain cortices using functional magnetic resonance imaging. *Bulletin Sci Tech Soc.* 2002;22:362–70.
28. Ifrim-Chen F, Ifrim M. Acupuncture and meridians: a histochemical study. *Ital J Anat Embryol.* 2005;110:51–7.
29. Van Wijk R, Soh KS, Van Wijk EP. Anatomic characterization of acupuncture system and ultra-weak photon emission. *Asian J Phys.* 2007;16:443–74.
30. Kim BH. Study on the reality of acupuncture meridians. *J Jo Sun Med.* 1962;9:5–13.
31. Kim BH. On the acupuncture meridian system. *J Jo Sun Med.* 1963;90:6–35.
32. Kim BH. The Kyungrak system. *J Jo Sun Med.* 1965;108:1–38.
33. Kim BH. Sanal theory. *J Jo Sun Med.* 1965;108:39–62.
34. Kim BH. Sanal and hematopoiesis. *J Jo Sun Med.* 1965;108:1–6.
35. Kim BH. On the Kyungrak system. *J Acad Med Sci DPR Korea.* 1963;90:1–41.
36. Reichmanis M, Marino AA, Becker RO. Electrical correlates of acupuncture points. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1975;22:533–5.
37. Johng HM, Cho JH, Shin HS, Sah KS, Koo TH, Choi SY, et al. Frequency dependence of impedances at the acupuncture point Quze (PC3). *IEEE Eng Med Biol.* 2002;21:33–6.
38. Ahn AC, Colber AP, Anderson BJ, Martinsen OG, Hammerschlag R, Cina S, et al. Electrical properties of acupuncture points and meridians: a systematic review. *Bioelectromagnetics.* 2008;29:245–56.
39. Soh KS. Bonghan duct and acupuncture meridian as optical channel of biophoton. *J Kor Phys Soc.* 2004;45:1196–8.
40. Fujiwara S, Yu SB. 'Bonghan theory' morphological studies. *Igaku no Ayumi.* 1967;60:567–77.
41. Kellner G. Bau und Funktion der Haut. *Dtsch Zschr Akup.* 1966;15:1–31.
42. Shin HS, Johng H, Lee BC, Cho S, Baik KY, Yoo JS, et al. Feulgen reaction study of novel threadlike structures on the surface of rabbit livers. *Anat Rec B New Anatomist.* 2005;284:35–40.
43. Lee BC, Yoo JS, Ogay V, Kim KW, Dobberstein H, Soh KS, et al. Electron microscopic study of novel threadlike structures on the surfaces of mammalian organs. *Microsc Res Tech.* 2007;70:34–43.
44. Sung B, Kim MS, Lee BC, Yoo JS, Lee SH, Kim YJ, et al. Measurement of flow speed in the channels of novel threadlike structures on the surfaces of mammalian organs. *Naturwissenschaften.* 2008;95:117–24.
45. Yoo JS, Kim MS, Sung B, Lee BC, Soh KS, Lee SH, et al. Cribriform structure with channels in the acupuncture meridian-like system on the organ surfaces of rabbits. *Acup Electrother Res.* 2007;32:130–2.
46. Lee C, Seol SK, Lee BC, Hong YK, Je JH, Soh KS. Alcian blue staining method to visualize Bonghan threads inside large caliber lymphatic vessels and X-ray microtomography to reveal their microchannels. *Lymphat Res Biol.* 2006;4:181–90.

47. Kwon JH, Baik KY, Lee BC, Soh KS, Lee NJ, Kang CJ. Scanning probe microscopy study of microcells from the organ surface Bonghan corpuscle. *Appl Phys Lett*. 2007;90:1-3.
48. Johng HM, Yoo JS, Yoon TJ, Shin HS, Lee BC, Lee C, et al. Use of magnetic nanoparticles to visualize threadlike structures inside lymphatic vessels of rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4:77-82.
49. Yoo JS, Johng HM, Yoon TJ, Shin HS, Lee BC, Lee C, et al. In vivo fluorescence imaging of threadlike tissues (Bonghan ducts) inside lymphatic vessels with nanoparticles. *Curr Appl Phys*. 2007;4:342-8.
50. Lee BC, Ogay V, Kim KW, Lee Y, Lee JK, Soh KS. Acupuncture muscle channel in the subcutaneous layer of rat skin. *J Acupunct Meridian Stud*. 2008;1:13-9.
51. Soh KS, Hong S, Hong JY, Lee BC, Yoo JS. Immunohistochemical characterization of intravascular Bonghan duct. *Microcirculation*. 2006;13:166.
52. Kim MS, Hong JY, Hong S, Lee BC, Nam CH, Woo HJ, et al. Bong-Han corpuscles as possible stem cell niches on the organ-surfaces. *J Kor Pharmacopunct Inst*. 2008;11:5-12.
53. Lee SJ, Lee BC, Nam CH, Lee WC, Jhang SU, Park HS, et al. Proteomic analysis for tissues and liquid from Bongha ducts on rabbit intestinal surfaces. *J Acupunct Meridian Stud*. 2008;1:97-109.
54. Kim JD, Ogay V, Lee BC, Kim MS, Lim I, Woo HJ, et al. Catecholamine-producing novel endocrine organ: Bonghan system. *Med Acupunct*. 2008;20:97-102.
55. Ogay V, Kim MS, Seok HJ, Choi CJ, Soh KS. Catecholamine-storing cells at acupuncture points of rabbits. *J Acupunct Meridian Stud*. 2008;1:83-90.
56. Park SH, Lee BC, Choi CJ, Soh KS, Choi JH, Lee SY, et al. Bioelectrical study of Bonghan corpuscles on organ surfaces in rats. *J Kor Phys Soc*. 2009, submitted.
57. Park SH. Bioelectrical Study of Bonghan System. PhD Thesis. Seoul National University; 2009.
58. Jiang X, Kim HK, Shin HS, Lee BC, Choi C, Soh KS, et al. Method for observing intravascular Bonghan duct. *Korean J Orient Prevent Med*. 2002;6:162-6.
59. Shin HS, Soh KS. Electrical method to detect a Bonghan duct inside blood vessels. *New Phys*. 2002;45:376-8.
60. Lee BC, Baik KY, Cho S, Min C, Johng HM, Hahm J, et al. Comparison of intravascular Bonghan ducts from rats. and mice *Korean J Orient Prevent Med*. 2003;7:47-53.
61. Lee BC, Baik KY, Johng HM, Nam TJ, Lee J, Sung B, et al. Acridine orange staining method to reveal the characteristic features of an intravascular threadlike structure. *Anat Rec B New Anat*. 2004;278:27-30.
62. Baik KY, Lee J, Lee BC, Johng HM, Nam TJ, Sung B, et al. Acupuncture meridian and intravascular Bonghan duct. *Key Eng Mater*. 2005;277:125-9.
63. Baik KY, Lee BC, Johng HM, Nam TJ, Sung B, Soh KS. Long threadlike structure inside the blood vessels of rats. *Newest Med*. 2004;47:18-22.
64. Yoo JS, Kim MS, Ogay V, Soh KS. In vivo visualization of Bonghan ducts inside blood vessels of mice by using an Alcian blue staining method. *Indian J Exp Biol*. 2008;46:336-9.
65. Lee BC, Baik KY, Johng HM, Sung B, Soh K, Kang DI, et al. Fluorescent method for observing intravascular Bonghan duct. *J Kor Inst Herb Acupunc*. 2005;8:5-9.
66. Lee BC, Yoo JS, Baik KY, Sung B, Lee J, Soh KS. Development of a fluorescence stereomicroscope and observation of Bong-Han corpuscles inside blood vessels. *Indian J Exp Biol*. 2008;46:330-5.
67. Lee BC, Yoo JS, Baik KY, Kim KW, Soh KS. Novel threadlike structures (Bonghan ducts) inside lymphatic vessels of rabbits visualized with a Janus Green B staining method. *Anat Rec B New Anat*. 2005;286:1-7.
68. Lee BC, Soh KS. Contrast-enhancing optical method to observe a Bonghan duct floating inside a lymph vessel of a rabbit. *Lymphology*. 2008;41:178-85.
69. Lee BC, Kim SK, Soh KS. Novel anatomic structures in the brain and spinal cord of rabbit that may belong to the Bonghan system of potential acupuncture meridians. *J Acupunct Meridian Stud*. 2008;1:29-35.
70. Farah ME, Maia M, Furlani B, Bottós J, Meyer CH, Lima V, et al. Current concepts of trypan blue in chromovitrectomy. *Dev Ophthalmol*. 2008;42:91-100.
71. Lee BC, Kim KW, Soh KS. Visualizing the network of Bonghan ducts in the omentum and peritoneum by using Trypan blue. *J Acupunct Meridian Stud*. 2009;2:66-70.
72. Lee BC, Bae KH, Jhon GJ, Soh KS. Bonghan system as mesenchymal stem cell niches and pathways of macrophages in adipose tissues. *J Acupunct Meridian Stud*. 2009;2:79-82.
73. Ogay V, Bae KH, Kim KW, Soh KS. Comparison of the characteristic features of Bonghan ducts, blood and lymphatic capillaries. *J Acupunct Meridian Stud*. 2009;2:107-17.
74. Lee CH, Yoo JS, Kim HH, Kwon J, Soh KS. Flow of nanoparticles inside organs-surface Bonghan ducts. *Proc 23rd Sym Kor Soc Jungshin Sci*. 2005;23:129-34.
75. Kandel E. Small systems of neurons. *Sci Am*. 1979;241:61-70.
76. Voll R. The phenomenon of medicine testing in electroacupuncture according to Voll. *Amer J Acup*. 1980;8:97-104.
77. Yoo JS, Choi K, Baik KY, Chung DS, Soh KS. Liquid-phase microextraction method in capillary electrophoresis to brain metastases. *Cancer Res*. 2007;67:1472-86.
78. Kierszenbaum AL. Histology and cell biology: an introduction to pathology. St. Louis: Mosby; 2002. p. 516.
79. Hwang YC. Anatomy and classification of acupoints. En: *Problems in Veterinary Medicine: Veterinary Acupuncture*. Philadelphia: JB Lippincott; 1992. p. 12-5.
80. Forte G, Minieri M, Cossa P, Antenucci D, Sala M, Gnocchi V, et al. Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: proliferation, migration and differentiation. *Stem Cells*. 2006;24:23-33.
81. Wuchter P, Boda-Heggemann J, Straub BK, Grund C, Kuhn C, Krause U, et al. Processus and recessus adherentes: giant adherens cell junction systems connect and attract human mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res*. 2007;328:499-514.
82. Huet E, Vallée B, Szul D, Verrecchia F, Mourah S, Jester JV, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer/CD147 promotes myofibroblast differentiation by inducing alpha-smooth muscle actin expression and collagen gel contraction: implications in tissue remodeling. *FASEB J*. 2008;22:1144-54.
83. Sung B, Ogay V, Yoo JS, Yu HR, Lee BC, Chung C, et al. UV-A-induced activation of Bonghan granules in motion. *J Int Soc Life Inf Sci*. 2005;23:297-301.
84. Sung B, Kim MS, Corrigan A, Donald A, Soh KS. In situ microextraction method to determine the viscosity of biofluid in threadlike structures on the surfaces of mammalian organs. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*. 2009;79 2 Pt 1:022901.
85. Ogay V, Baik KY, Lee BC, Soh KS. Characterization of DNA-containing granules flowing through the meridian-like system on the internal organs of rabbits. *Acupunct Electrother Res*. 2006;31:13-31.
86. Baik KY, Ogay V, Jeoung SC, Soh KS. Visualization of Bonghan microcells by electron and atomic force microscopy *J Acupunct Meridian Stud*. 2009;2:124-9.
87. Baik KY. Fluorescence imaging of Bonghan duct with nanoparticles and study of sanal membrane with atomic force microscope. PhD Thesis. Seoul National University; 2008.

88. Buikis I, Harju L, Freivalds T. Origin of microcells in the human sarcoma cell line HT-1080. *Anal Cell Pathol.* 1999;18:73-85.
89. Ogay V, Baik KY, Sung B, Soh KS. Naturally generated microcells as one possible origin of adult stem cells. *J Int Soc Life Inf Sci.* 2005;23:286-90.
90. Elliott ST, Crider DG, Garham CP, Boheler KR, Van Eyk JE. Two-dimensional gel electrophoresis database of murine R1 embryonic stem cells. *Proteomics.* 2004;4:3813-32.
91. Baharvand H, Hajheidari M, Ashtiani SK, Salekdeh GH. Proteomic signature of human embryonic stem cells. *Proteomics.* 2006;6:3544-9.
92. Chen EI, Hewel J, Kreuger JS, Tiraby C, Weber MR, Kralli A, et al. Adaptation of energy metabolism in breast cancer brain metastases. *Cancer Res.* 2007;67:1472-86.
93. Lian Z, Kluger Y, Greenbaum DS, Tuck D, Gerstein M, Berliner N, et al. Genomic and proteomic analysis of the myeloid differentiation program: global analysis of gene expression during induced differentiation in the MPRO cell line. *Blood.* 2002;100:3209-20.
94. Yoo JS, Kim HB, Ogay V, Lee BC, Ahn S, Soh KS. Bonghan ducts as possible pathways for cancer metastasis. *J Acupunct Meridian Stud.* 2009;2:118-23.