

***Ambystoma mexicanum*, un extraordinario modelo animal para estudiar la capacidad regenerativa**

Ambystoma mexicanum, an extraordinary animal model to study regenerative capacity

Cruz Jiménez Ivette¹; Otero Negrete J. Jimena²; Sámano Salazar Cynthia G.^{2*}

¹Universidad Autónoma Metropolitana -UAM-Cuajimalpa, México

²Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma Metropolitana -UAM-Cuajimalpa, México

Autor de correspondencia *csamano@cua.uam.mx

Resumen

Ambystoma mexicanum es un ajolote endémico del Valle de México, considerado un excelente modelo de estudio por tener la capacidad de regenerar casi cualquier parte del cuerpo y en prácticamente cualquier etapa de su vida. Esta revisión presenta las características biológicas (celulares y moleculares) que distinguen al ajolote *Ambystoma mexicanum* entre otros modelos animales utilizados en investigación de regeneración.

Palabras clave: *Ambystoma mexicanum*, ajolote, regeneración biológica, regeneración tisular

Abstract

Ambystoma mexicanum is an endemic axolotl from Mexico City, considered an excellent study model for having the ability to regenerate almost any part of the body at practically any stage of its life. This review presents the main biological characteristics (cellular and molecular) that distinguish the axolotl *Ambystoma mexicanum* from other animals used in regeneration research.

Keywords: *Ambystoma mexicanum*, axolotl, biological regeneration, tissue regeneration



Introducción

La regeneración es un proceso fisiológico que ocurre para restituir células, tejidos, órganos o incluso, partes completas del cuerpo dañado de un organismo. El mecanismo de regeneración biológica se comporta de forma diferente en los animales (Tabla 1); especies como los caracoles, las estrellas de mar, hidras y algunos vertebrados, como los anfibios y reptiles, poseen dicha capacidad; mientras que las aves y los mamíferos, aunque poseen cierto grado de habilidad regenerativa, es limitada, y en realidad se puede decir que han perdido la capacidad de regenerar sus órganos y tejidos. La regeneración de estructuras tiene como consecuencia cambios complejos que ocurren a nivel celular y molecular en la estructura dañada. Se han descrito tres orígenes principales de las células regenerativas, a partir de: 1) células madre, 2) dediferenciación y 3) transdiferenciación. Las células madre son células indiferenciadas con capacidad ilimitada de dividirse y que pueden diferenciarse en uno o más tipos celulares y varían dependiendo de su potencialidad (unipotentes, multipotentes o pluripotentes). La dediferenciación implica que las células diferenciadas maduras vuelven a un estado inmaduro con propiedades típicas de células progenitoras como la división. La transdiferenciación involucra que las células maduras son diferentes del tipo celular original del que provenían (Brookes & Kumar, 2002; King & Newmark, 2012; Kragl et al., 2009; Merrel & Stanger, 2016; Reddien, 2018). Clásicamente, se ha considerado que algunos organismos, como las hidras, reemplazan partes faltantes al remodelar drásticamente los tejidos existentes; una proporción de los viejos tejidos se transforman en aquellos que se han perdido y con poco crecimiento de tejido nuevo; este mecanismo se conoce como *morfalaxis* (Pelletier, 2019). Mientras que otros, como los peces teleosteos, urodelos (salamandras y tritones) llevan a cabo *epimorfis* (Agata et al., 2007), el cual implica que se produce primero una estructura en donde hay proliferación celular activa, llamada *blastema*; donde las células pueden dediferenciarse y posteriormente reprogramarse molecularmente dando lugar a todos los tejidos de la estructura a regenerar (casi cualquier extremidad, cartilago, órgano u otra parte del cuerpo) (Gilbert, 2005; Durán, 2009; Gerber et al., 2018). Mientras que el mecanismo *intercalar* propuesto en las planarias, implica un proceso de *morfalaxis* simultáneo a la generación *epimórfica* (Durán, 2009; Agata et al., 2007). Diversos investigadores han estudiado el fenómeno de la regeneración biológica en diferentes modelos animales (Tabla 1), entre los que destacan las salamandras y particularmente el ajolote mexicano *Ambystoma mexicanum*.

El creciente interés por esta peculiar especie es debido a su capacidad de encontrarse en estado de *neotenia* (conserva caracteres larvarios en estado adulto) y a su gran capacidad regenerativa, presente casi en cualquier momento de su vida, aun cuando pierden parcial o completamente una extremidad (Demircan et al., 2016). Lo cual tiene importantes implicaciones en el desarrollo, medicina regenerativa, tratamiento de lesiones, cáncer y procesos de envejecimiento. En esta revisión tratamos de evidenciar las particularidades más destacadas que presenta el ajolote *Ambystoma mexicanum* y por las cuales se considera como un modelo animal extraordinario para investigar los mecanismos celulares y moleculares implicados en la regeneración biológica.

Ambystoma mexicanum, una especie emblemática de México

El ajolote *Ambystoma mexicanum* pertenece al género de anfibios *Ambystoma* y la familia *Ambistomatidae* que comprende 32 especies, las cuales se distribuyen desde el sur de Canadá hasta el centro de México. Entre las 16 especies mexicanas de *Ambystoma*, la más estudiada es *Ambystoma mexicanum*, comúnmente conocido como ajolote de Xochimilco y considerado un ícono de México, ya que es endémico y habita en los lagos de Xochimilco y Chalco. Incluso, aparece en las leyendas mexicas y el nombre proviene del náhuatl: *atl* “agua” y *xolotl* “mounstruo”, haciendo referencia al dios Xólotl (Gresens J, 2004; Mena H, 2014). En la actualidad es una especie considerada en peligro de extinción, su hábitat se ha alterado debido a las actividades del hombre, a la contaminación, al cambio climático e introducción de especies exóticas (Koenig, 2008; Demircan, et al., 2016; Vance, 2017). Sin embargo, *A. mexicanum* es quizás uno de los anfibios que más se pueden encontrar en acuarios, tiendas de mascotas o en laboratorios de investigación a nivel mundial; aunque posiblemente los especímenes de estos lugares tienen cierto grado de endogamia ya que provienen de la misma población que desde hace tiempo han estado en cautiverio; situación que los predispone a desarrollar ciertas enfermedades. Debido a esta problemática y para evitar el mercado negro de *Ambystoma*, diversas instituciones han hecho un esfuerzo para conservar su diversidad genética, promover la investigación biomédica y liberar especímenes de *A. mexicanum* a su hábitat natural. Actualmente, la Universidad de Kentucky alberga la colonia más grande de ajolotes en el *Ambystoma Genetic Stock Center* (AGSC, <https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/>). A nivel nacional, en 2010 México declaró al *A. mexicanum* una

especie protegida y se publica la Norma Oficial Mexicana 059 (NOM-059; <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010>). Por su parte las Unidades de Manejo Ambiental (UMAs) que buscan producir colonias endémicas de Xochimilco, se encuentra el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC, <http://www2.xoc.uam.mx/investigacion/cibac/>) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco; el vivario de la Facultad de Estudios Superiores, Iztacala (https://biologia.iztacala.unam.mx/bio_vivario.php), de la Universidad Nacional Autónoma de México y Umbral Axochiatl, una asociación ubicada en Xochimilco (<https://www.cielo.org.mx/component/k2/item/174-umbral-axochiatl-a-c>).

La introducción del ajolote como modelo de estudio al ámbito científico

En un modelo de estudio se emplean animales de especies distintas a la humana, para investigación biomédica o docencia y son seleccionados por sus características específicas. Uno de los modelos más utilizados son los anfibios, debido a que incluyen gran diversidad taxonómica, tolerancia a grandes variaciones en el ambiente, fácil mantenimiento en cautiverio y mayor similitud con los humanos en comparación con otras especies animales. Todas estas ventajas han hecho que los anfibios constituyan un tercio de los modelos animales utilizados en los laboratorios (Pérez, et al., 2009; Joven et al., 2019). Los primeros registros de que las salamandras fueron introducidas como modelo de estudio de la regeneración de médula espinal datan del siglo XVIII por el clérigo italiano Lazzaro Spallanzani (Tsonis & Fox 2009; Lederman, 2020). Posteriormente, alrededor de 1800, Alexander von Humboldt realizó un viaje a América y envió al profesor Georges Cuvier (miembro del Museo de París), dos especímenes de ajolotes preservados en alcohol. Cuvier estudió al ajolote y lo clasificó de acuerdo a la taxonomía establecida por Carlos Linneo; quien consideraba que los anfibios eran aquellos que presentaban los órganos para respirar en tierra y bajo el agua; además de mantener sus estructuras en fase juvenil. Cuvier continuó tratando de clasificar al ajolote como anfibio, pero concluyó que era una larva de alguna especie de reptil. En 1864, llegaron a París 34 ajolotes que fueron parte de una colección proveniente de una expedición científica que se llevó a cabo en México.

Dicha colección fue entregada a la Société impériale zoologique d'acclimatation, algunos de esos animales fueron exhibidos al público en el Jardin zoologique d'acclimatation, considerado como el primer zoológico. Auguste Duméril, profesor de ictiología y herpetología del Muséum d'Histoire Naturelle en París, recibió algunos ejemplares de ajolotes que llegaron a Francia. Clasificó siete especímenes de *Ambystoma mexicanum* (seis silvestres y uno blanco mutante), los introdujo a la comunidad científica y los mantuvo en la colección de reptiles (Gresens, 2004; Reiß et al., 2015; Voss et al., 2015). Más tarde, en 1960 se estableció una colonia de ajolotes que incluyó a la salamandra *Ambystoma tigrinum*. De hecho, se puede decir que la mayoría de los ajolotes actuales en laboratorios de investigación, descienden directamente de los mismos fundadores.

Características que definen al *Ambystoma mexicanum* como modelo de estudio

Diversas especies presentan una capacidad regenerativa de varias partes de su cuerpo a partir de diferentes procesos celulares: Diferenciación celular, a partir de células madre, células indiferenciadas, etc. (Tabla 1), sin embargo, las salamandras se han convertido en “líderes” de la regeneración. Entre las especies más usadas para estudios del desarrollo y regenerativos destaca el ajolote *Ambystoma mexicanum* y algunas especies de tritones, aunque estos últimos no se han destacado como modelos de estudio debido a que no son fáciles de mantener en condiciones de laboratorio (Sánchez-Alvarado, 2006). En particular, *A. mexicanum* es un extraordinario modelo de estudio debido a sus características biológicas y genómicas, las cuales se mencionan a continuación.

A. mexicanum lleva a cabo *paedomorfosis*, es decir se mantiene toda su vida en un estado juvenil, retiene características acuáticas durante todo su ciclo de vida; lo que posibilita estudiar su adaptación al hábitat en el que se encuentra y poder diseñar estrategias de conservación y restauración de la población silvestre de ajolotes (Demircan, et al., 2016). Además, es una de las especies de vertebrados con mayor capacidad de regeneración celular, son capaces de regenerar extremidades amputadas, órganos y tejidos del organismo en cuestión de semanas, y aunque este proceso depende de la edad del organismo, es un mecanismo extraordinario que debe ser estudiado a profundidad, a nivel celular y molecular.

Por otro lado, la secuenciación del genoma del ajolote ha sido un paso fundamental para entender su organización y estructura genómica, así como para comprender los mecanismos asociados al desarrollo y a la regeneración biológica. *Ambystoma mexicanum* tiene un genoma que comprende 32 gigabases (GB), organizado en 14 pares de cromosomas. Su tamaño es 10 veces mayor que el del humano (Keinath et al., 2015; Nowoshilow et al., 2018) y es distintivo de otros, debido a su tamaño y al número de elementos repetidos que presenta (~ 70%) (Long Terminal Repeat, por sus siglas en inglés LTR). Estos elementos LTR se han sugerido que pudieran fungir como factores reguladores clave en los mecanismos celulares y moleculares de regeneración en los ajolotes; sin embargo, esto aún debe estudiarse a profundidad (Nowoshilow et al., 2018).

Si bien desde el siglo XVIII surgió el interés por investigar las características regenerativas de algunos animales, y que fueron desarrollándose estudios en organismos como: *Hydras*, planarias, equinodermos, peces, etc., en los últimos años, *A. mexicanum* se ha convertido en una especie modelo para investigar los mecanismos implicados en la regeneración, lo cual ha conducido a un aumento de reproducción de los ajolotes, aprovechando sus características reproductivas y de fácil mantenimiento en laboratorios de institutos de investigación. Su singularidad radica en que pueden regenerar, una amplia gama de estructuras complejas como sistema nervioso (cerebro y médula espinal), ojo, sangre, huesos, músculo y epitelios básicamente mediante *desdiferenciación celular* (Tabla 1) (Suetzugu et al., 2012; Wu et al., 2015; Tazaki, et al., 2017; Haas & Whited, 2017; Gerber et al., 2018), donde las células diferenciadas maduras cercanas a una herida adquieren capacidades proliferativas para generar nuevas células. Estas células progenitoras son las que se diferenciarán en los tejidos necesarios en la regeneración de una extremidad, y pueden producirse de nuevo a partir de tejidos diferenciados en sucesivas rondas de regeneración. Una característica relevante, que pudiera indicar cierta “memoria celular” en los ajolotes (Iwata et al., 2020) e incluso en el pez cebra, es que las células provenientes del proceso de *desdiferenciación* siempre se diferenciarán en el mismo tipo celular del que provenían (Nye et al., 2003; Kragl et al., 2009; Sandoval-Guzmán et al., 2014; Wu et al., 2015).

Cabe mencionar, que *A. mexicanum* es una especie en peligro de extinción en su hábitat natural, lo cual ha atraído el interés de los investigadores para ser estudiados en cautiverio, debido a que son fáciles de alimentar, y los problemas de reproducción y del desarrollo de las crías son mínimos (Farkas, et al., 2015); con la finalidad de proponer

estrategias de conservación, preservación e incluso liberar especies en áreas controladas y protegidas. Otra ventaja de la especie *A. mexicanum*, es que existe la disponibilidad de varias líneas genéticamente modificadas, permitiendo estudiar los procesos de adaptación al ambiente y regeneración tisular asociados a la variabilidad genética.

Conclusiones

La aplicación de diferentes estrategias en la medicina regenerativa está en progreso, gran parte de las contribuciones han sido gracias a la investigación básica generada en diversos modelos animales. En este campo resulta primordial estudiar la regeneración en el máximo número posible de especies para poder llevar a cabo estudios comparativos y determinar así tanto las similitudes como las diferencias entre las diferentes estrategias usadas. Particularmente, el ajolote *Ambystoma mexicanum* ha maravillado a la comunidad científica debido a su capacidad regenerativa, y ha generado nuevo conocimiento sobre la biología celular y molecular implicadas en este mecanismo. Puntualizando las ventajas de *A. mexicanum* como modelo de estudio, destacan: i) es un vertebrado, ii) regenera toda su vida, iii) genoma secuenciado, iv) existen líneas genéticamente modificadas, v) fácil de reproducir y mantener en condiciones de laboratorio y tiene vi) similitud tisular con el humano. Ya que para aprovechar en biomedicina la capacidad regenerativa de un modelo animal, es deseable que tenga una composición de tejidos similar al humano.

Respecto al proceso regenerativo, vale la pena mencionar que a la fecha se han propuesto algunos genes “candidatos” que pudieran contribuir a la regeneración de tejidos en *A. mexicanum* (Nacu et al., 2013; Darnet et al., 2019), sin embargo, aún falta determinar la participación de otros genes, así como el origen de las células regenerativas para entender los mecanismos celulares, moleculares e incluso epigenéticos (Bian et al., 2009; Voss et al., 2019) que pudieran definir el éxito o el fracaso para que ocurra la regeneración biológica en el ajolote y otras especies. Lo anterior resulta relevante para tratar de obtener nuevas pistas sobre los mecanismos implicados en la regeneración y su posible extrapolación en el campo de la medicina.

Tabla 1: modelos animales en los que ocurre regeneración biológica

Organismo	Invertebrado/Vertebrado	Etapas de la vida en la que ocurre regeneración	Limitaciones para investigar la regeneración	Capacidad regenerativa
Hídras: <i>Hydra vulgaris</i>	Invertebrado	Durante toda la vida	En el desarrollo de estudios moleculares (Mehta & Singh, 2019).	Los tejidos pre-existentes que se encuentran en el eje de su cuerpo, empiezan un proceso de diferenciación celular para regenerar la parte amputada (Sánchez-Alvarado, 2006).
Planarias: <i>Schmidtea mediterranea</i>	Invertebrado	Durante toda la vida	Alto grado de mortalidad en el laboratorio. En el desarrollo de estudios moleculares (Mehta & Singh, 2019).	Regeneración completa del organismo. Ocurre la formación de un blastema a partir de la proliferación de células madre somáticas conocidas como neoblastos (Hernández Ramírez, 2006; Sánchez-Alvarado, 2006; King & Newmark, 2012).
Equinodermas: Estrellas de mar Crinoidea, Asteroidea, Ophiuroidea	Invertebrado	Durante toda la vida	Muchas interrogantes por contestar en el proceso de regeneración de estos animales. Falta de información a nivel genético (Ben et al, 2018).	Si se pierde uno o más brazos, se desarrolla un nuevo brazo. Ocurre un proceso regenerativo que da lugar a un organismo completo (Hernández Ramírez, 2006).
Peces teleosteos: <i>Danio rerio</i>	Vertebrado	Durante toda la vida	Dificultad en algunos estudios <i>in vivo</i> en etapas adultas, y para el desarrollo de herramientas moleculares (Marques et al., 2019).	Mantienen en su organismo una reserva de células indiferenciadas que les permiten la regeneración del sistema nervioso central, y otras regiones del cuerpo como las aletas (Darnet et al., 2019; Sánchez-Alvarado, 2006).
Ranas: <i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	No en la etapa adulta	Los miembros que regeneran en la etapa adulta no son totalmente funcionales (Mescher & Neff, 2019).	Conforme el animal va desarrollando sus etapas de metamorfosis, la habilidad de regenerar va disminuyendo. La regeneración en estos animales depende de la presencia de células indiferenciadas (Hernández Ramírez, 2006; Sánchez-Alvarado, 2006; Vieira et al., 2020).
Ajolotes: <i>Ambystoma mexicanum</i>	Vertebrado	Durante toda la vida	No es útil como modelo de algunas patologías que afectan al humano (Tseng & Levin, 2008; Mehta & Singh, 2019).	En cualquier momento de su vida pueden regenerar extremidades que han perdido. Son los únicos vertebrados adultos que pueden regenerar estructuras de su cuerpo como los maxilares inferior y superior, los dientes, componentes oculares, parte del tejido cardíaco, sistema nervioso central (Hernández Ramírez, 2006; Sánchez-Alvarado, 2006; Darnet et al., 2019).

Se muestran algunos modelos animales de invertebrados y vertebrados, los cuales son capaces de regenerar diversas estructuras de su cuerpo en alguna etapa de la vida. Destaca el ajolote *Ambystoma mexicanum* por las diferentes regiones del cuerpo que pueden regenerar durante toda la vida. Adicionalmente, se ejemplifican algunas limitaciones en el laboratorio para investigar de la regeneración biológica en los modelos animales mencionados.

Referencias

- Agata, K., Saito, Y., & Nakajima, E. (2007). Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis. *Development, growth & differentiation*, 49(2), 73–78. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2007.00919.x>
- Ambystoma Genetic Stock Center (AGSC). (2019). History of the Ambystoma Genetic Stock Center. University of Kentucky. National Institutes of Health. <https://ambystoma.uky.edu/genetic-stock-center/>
- Ben Khadra, Y., Sugni, M., Ferrario, C., Bonasoro, F., Oliveri, P., Martinez, P., & Candia Carnevali, M. D. (2018). Regeneration in Stellate Echinoderms: Crinoidea, Asteroidea and Ophiuroidea. *Results and problems in cell differentiation*, 65, 285–320. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92486-1_14
- Blan, Y., Alberio, R., Allegrucci, C., Campbell, K. H., & Johnson, A. D. (2009). Epigenetic marks in somatic chromatin are remodelled to resemble pluripotent nuclei by amphibian oocyte extracts. *Epigenetics*, 4(3), 194–202. <https://doi.org/10.4161/epi.4.3.8787>
- Brookes, J. P., & Kumar, A. (2002). Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 3(8), 566–574. <https://doi.org/10.1038/nrm881>
- Centro de Investigaciones Biológicas y Acuáticas de Cuernavaca (CIBAC). (2020, Octubre). El ajolote. Universidad Autónoma Metropolitana. <http://www2.xoc.uam.mx/investigacion/cibac/>
- Darnet, S., Dragalzew, A. C., Amaral, D. B., Sousa, J. F., Thompson, A. W., Cass, A. N., Lorena, J., Pires, E. S., Costa, C. M., Sousa, M. P., Fröbisch, N. B., Oliveira, G., Schneider, P. N., Davis, M. C., Braasch, I., & Schneider, I. (2019). Deep evolutionary origin of limb and fin regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(30), 15106–15115. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900475116>
- Demircan, T., İlhan, A. E., Aytürk, N., Yıldırım, B., Öztürk, G., & Keskin, İ. (2016). A histological atlas of the tissues and organs of neotenic and metamorphosed axolotl. *Acta histochemica*, 118(7), 746–759. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.07.006>
- Durán Iván. (2009). Modelos de Regeneración. *Encuentros en la biología*, 2(122). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3002501>
- Farkas, J. E., & Monaghan, J. R. (2015). Housing and maintenance of Ambystoma mexicanum, the Mexican axolotl. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1290, 27–46. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2495-0_3
- Gerber, T., Murawala, P., Knapp, D., Masselink, W., Schuez, M., Hermann, S., Gac-Santel, M., Nowoshilow, S., Kageyama, J., Khattak, S., Currie, J. D., Camp, J. G., Tanaka, E. M., & Treutlein, B. (2018). Single-cell analysis uncovers convergence of cell identities during axolotl limb regeneration. *Science* (New York, N.Y.), 362(6413), eaaq0681. <https://doi.org/10.1126/science.aaq0681>
- Gilbert, S. F. (2005). *Biología del Desarrollo*. Argentina: Médica Panamericana.
- Gresens J. (2004). An introduction to the Mexican axolotl (Ambystoma mexicanum). *Lab animal*, 33(9), 41–47. <https://doi.org/10.1038/labani100441>
- Haas, B. J., & Whited, J. L. (2017). Advances in Decoding Axolotl Limb Regeneration. *Trends in genetics: TIG*, 33(8), 553–565. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.05.006>
- Hernández Ramírez, Porfirio. (2006). Regeneración biológica: Secretos de la naturaleza. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 22(3) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=So864-02892006000300004&lng=es&tlng=es
- Iwata, R., Makanae, A., & Satoh, A. (2020). Stability and plasticity of positional memory during limb regeneration in Ambystoma mexicanum. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 249(3), 342–353. <https://doi.org/10.1002/dvdy.96>
- Joven, A., Elewa, A., & Simon, A. (2019). Model systems for regeneration: salamanders. *Development* (Cambridge, England), 146(14), dev167700. <https://doi.org/10.1242/dev.167700>
- Keinath, M. C., Timoshevskiy, V. A., Timoshevskaya, N. Y., Tsonis, P. A., Voss, S. R., & Smith, J. J. (2015). Initial characterization of the large genome of the salamander Ambystoma mexicanum using shotgun and laser capture chromosome sequencing. *Scientific reports*, 5, 16413. <https://doi.org/10.1038/srep16413>
- King, R. S., & Newmark, P. A. (2012). The cell biology of regeneration. *The Journal of cell biology*, 196(5), 553–562. <https://doi.org/10.1083/jcb.201105099>
- Koenig R. (2008). Endangered species. Sanctuaries aim to preserve a model organism's wild type. *Science* (New York, N.Y.), 322(5907), 1456–1457. <https://doi.org/10.1126/science.322.5907.1456>
- Kragl, M., Knapp, D., Nacu, E., Khattak, S., Maden, M., Epperlein, H. H., & Tanaka, E. M. (2009). Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. *Nature*, 460(7251), 60–65. <https://doi.org/10.1038/nature08152>
- Ledermann D W. (2020). Leyendo a Spallanzani hoy en día [Reading Spallanzani today]. *Revista chilena de infectología: órgano oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 37(1), 64–68. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000100064>
- Marques, I. J., Lupi, E., & Mercader, N. (2019). Model systems for regeneration: zebrafish. *Development* (Cambridge, England), 146(18), dev167692. <https://doi.org/10.1242/dev.167692>
- Mehta, A. S., & Singh, A. (2019). Insights into regeneration tool box: An animal model approach. *Developmental biology*, 453(2), 111–129. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.04.006>
- Mena González Horacio, & Montes de Oca Kenia. (2014). *Manual de Procedimientos para el Manejo y Mantenimiento de la Colonia de Axolotes del Laboratorio de Restauración Ecológica*. Biología, 35. <https://doi.org/10.22201/lb.9786070258268p.2014>
- Merrell, A. J., & Stanger, B. Z. (2016). Adult cell plasticity in vivo: de-differentiation and transdifferentiation are back in style. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 17(7), 413–425. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.24>
- Mescher, A. L., & Neff, A. W. (2019). Studies of Limb Regeneration in Larval *Xenopus*. *Cold Spring Harbor protocols*, 2019(4), 10.1101/pdb.prot100990. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot100990>
- Nacu, E., Glausch, M., Le, H. Q., Damanik, F. F., Schuez, M., Knapp, D., Khattak, S., Richter, T., & Tanaka, E. M. (2013). Connective tissue cells, but not muscle cells, are involved in establishing the proximo-distal outcome of limb regeneration in the axolotl. *Development* (Cambridge, England), 140(3), 513–518. <https://doi.org/10.1242/dev.081752>
- Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT-2010. (NOM-059). (12 septiembre 2016). Procuraduría Federal de protección al Ambiente. Documentos. <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-059-semarnat-2010>
- Nowoshilow, S., Schloissnig, S., Fei, J. F., Dahl, A., Pang, A., Pippel, M., Winkler, S., Hastie, A. R., Young, G., Roscito, J. G., Falcon, F., Knapp, D., Powell, S., Cruz, A., Cao, H., Habermann, B., Hiller, M., Tanaka, E. M., & Myers, E. W. (2018). The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. *Nature*, 554(7690), 50–55. <https://doi.org/10.1038/nature25458>
- Nye, H. L., Cameron, J. A., Chernoff, E. A., & Stocum, D. L. (2003). Regeneration of the urodele limb: a review. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 226(2), 280–294. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10236>
- Pellettieri J. (2019). Regenerative tissue remodeling in planarians - The mysteries of morphallaxis. *Seminars in cell & developmental biology*, 87, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.04.004>
- Pérez, M., Rojo, C., & Encinas, M. T. (2009). Modelos animales en anfibios. *Revista Complutense De Ciencias Veterinarias*, 3(2), 315–323. <https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0909220315A>
- Reddien P. W. (2018). The Cellular and Molecular Basis for Planarian Regeneration. *Cell*, 175(2), 327–345. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.02>
- Reiß, C., Olsson, L., & Holsfeld, U. (2015). The history of the oldest self-sustaining laboratory animal: 150 years of axolotl research. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution*, 324(5), 393–404. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22617>
- Sánchez Alvarado, A., & Tsonis, P. A. (2006). Bridging the regeneration gap: genetic insights from diverse animal models. *Nature reviews. Genetics*, 7(11), 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrg1923>
- Sandoval-Guzmán, T., Wang, H., Khattak, S., Schuez, M., Roensch, K., Nacu, E., Tazaki, A., Joven, A., Tanaka, E. M., & Simon, A. (2014). Fundamental differences in dedifferentiation and stem cell recruitment during skeletal muscle regeneration in two salamander species. *Cell stem cell*, 14(2), 174–187. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.004>
- Suetsugu-Maki, R., Maki, N., Nakamura, K., Sumanas, S., Zhu, J., Del Río-Tsonis, K., & Tsonis, P. A. (2012). Lens regeneration in axolotl: new evidence of developmental plasticity. *BMC biology*, 10, 103. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-10-103>

- Tazaki, A., Tanaka, E. M., & Fei, J. F. (2017). Salamander spinal cord regeneration: The ultimate positive control in vertebrate spinal cord regeneration. *Developmental biology*, 432(1), 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.09.034>
- Tseng, A. S., & Levin, M. (2008). Tail regeneration in *Xenopus laevis* as a model for understanding tissue repair. *Journal of dental research*, 87(9), 806–816. <https://doi.org/10.1177/154405910808700909>
- Tsonis, P. A., & Fox, T. P. (2009). Regeneration according to Spallanzani. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 238(9), 2357–2363. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22057>
- Umbra! Axochiatl en Xochimilco (Octubre, 2020). CIELO. <https://www.cielo.org.mx/component/k2/item/174-umbra!-axochiatl-a-c>
- Vance E. (2017). Biology's beloved amphibian - the axolotl - is racing towards extinction. *Nature*, 551(7680), 286–289. <https://doi.org/10.1038/d41586-017-05921-w>
- Vieira, W. A., Wells, K. M., & McCusker, C. D. (2019). Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging. *Gerontology*, 66(3), 212–222. <https://doi.org/10.1159/000504294>
- Vieira, W. A., Wells, K. M., & McCusker, C. D. (2020). Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging. *Gerontology*, 66(3), 212–222. <https://doi.org/10.1159/000504294>
- Vivario de la Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. (Octubre, 2020). *Laboratorio de Herpetología, “vivario”*. Universidad Nacional Autónoma de México. https://biologia.iztacala.unam.mx/bio_vivario.php
- Voss, S. R., Woodcock, M. R., & Zambrano, L. (2015). A Tale of Two Axolotls. *Bioscience*, 65(12), 1134–1140. <https://doi.org/10.1093/biosci/biv153>
- Voss, S. R., Ponomareva, L. V., Dwaraka, V. B., Pardue, K. E., Baddar, N., Rodgers, A. K., Woodcock, M. R., Qiu, Q., Crowner, A., Blichmann, D., Khatri, S., & Thorson, J. S. (2019). HDAC Regulates Transcription at the Outset of Axolotl Tail Regeneration. *Scientific reports*, 9(1), 6751. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43230-6>
- Wu, C. H., Huang, T. Y., Chen, B. S., Chiou, L. L., & Lee, H. S. (2015). Long-duration muscle dedifferentiation during limb regeneration in axolotls. *PloS one*, 10(2), e0116068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116068>