

Efecto de la clindamicina, meropenem y vancomicina sobre la proliferación celular de los fibroblastos primarios humanos

Francisco Martínez Flores^{1,2}; Catalina Machuca Rodríguez³; Elizabeth Arce de la Vega¹; Sergio Galicia Zapatero¹; Fernando Daniel de la O Lugo¹; Lucinda Aguirre-Cruz⁴; Dora Luz de la Cruz Aguilera⁴. Ruth Jaimez²

ISSN IMPRESO 2954-4327. ISSN ELECTRÓNICO 2992-7277
<https://dx.doi.org/10.58713/rf.v2i9.6> Ciudad de México

Resumen

Introducción:

Los antibióticos β-lactámicos son componentes esenciales en cocteles de antibióticos para disminuir la carga bacteriana en tejidos con fines de trasplante.

Objetivo:

El presente estudio evaluó la citotoxicidad de cuatro antibióticos (Clindamicina, Ceftriaxona, Meropenem y Vancomicina) utilizados para la desinfección de tejidos sobre la proliferación de fibroblastos durante un período de 10 días.

Materiales y métodos:

Se evaluaron los fármacos a tres concentraciones distintas (dosis mínima, media y máxima) y se comparó el crecimiento celular con un grupo control sin exposición a antibióticos. Resultados: Los resultados al día 10 revelaron variaciones significativas en la citotoxicidad de Clindamicina y Ceftriaxona: Ambos antibióticos exhibieron la menor citotoxicidad y una excelente biocompatibilidad con los fibroblastos. Vancomicina: Demostró el mayor efecto citotóxico de todos los compuestos evaluados, con una inhibición de la proliferación dependiente de la dosis. Meropenem: La dosis mínima y media (10 y 15 µg/ml) mostraron un efecto citotóxico moderado.

Conclusión:

Los antibióticos sistémicos probados en este estudio, no mostraron efectos significativos para inhibir la proliferación de FPH's a los 3 y 5 días en las dosis estudiadas, por lo que se pueden usar de manera eficiente en la desinfección de tejidos con fines de trasplante hasta por 72 horas.

Palabras Clave:

Ceftriaxona, Clindamicina, Meropenem, Vancomicina, Fibroblastos, banco de tejidos. endotipos T2-alto y T2-bajo.

Abstract

Introduction:

Beta-lactamic antibiotics are essential components in antibiotic cocktails to reduce bacterial load in tissues for transplantation.

Objective:

This study evaluated the cytotoxicity of four antibiotics (vancomycin, ceftriaxone, meropenem, and clindamycin) used for tissue disinfection on fibroblast proliferation over a 10-day period.

Materials and methods:

The drugs were evaluated at three different concentrations (minimum, medium, and maximum doses), and cell growth was compared with a control group. Results: The results on day 10 revealed significant variations in cytotoxicity of Clindamycin and Ceftriaxone: Both antibiotics exhibited the lowest cytotoxicity and excellent biocompatibility with fibroblasts. Vancomycin: Demonstrated the greatest cytotoxic effect of all the compounds evaluated, with dose-dependent inhibition of proliferation. Meropenem: The minimum and medium doses (10 and 15 µg/ml) showed a moderate cytotoxic effect.

Conclusion:

The systemic antibiotics tested in this study did not show significant effects in inhibiting FPH proliferation at 3 and 5 days at the doses studied; therefore, they can be used efficiently for tissue disinfection for transplantation purposes for up to 72 hours.

Keywords:

Ceftriaxone, Clindamycin, Meropenem, Vancomycin, Fibroblasts, tissue banking.

Autor de correspondencia: Francisco Martínez-F. MD, PhD. Banco de Piel y Tejidos. Correo electrónico: fmartinef@gmail.com ORCID: 0000-0002-4581-701X. Elizabeth Arce de la Vega ORCID: 0009-0003-9990-8915. Sergio Galicia Zapatero ORCID: 0009-0001-6527-7292. Ruth Jaimez ORCID: 0000-0242-8005-70. Lucinda Aguirre Cruz ORCID: 0000-0242-8005-70. ¹Programa de Bioterapéutica Molecular. Banco de Piel y Tejidos del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Secretaría de Salud, México. ²Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. ³Laboratorio de Terapia Molecular; Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. ⁴Laboratorio de Neuroinmunoendocrinología; Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco. Secretaría de Salud, México.

1. Introducción

La recuperación biológica de tejidos es uno de los procedimientos más eficientes para la preservación de tejidos con fines de trasplante, cuyo objetivo principal es mantener la viabilidad celular de los tejidos, preservar sus propiedades biológicas y reducir la carga microbiológica ⁽¹⁾. El uso de antibióticos es esencial para la reducción de la carga bacteriana, pero variable en protocolos de descontaminación de tejidos; por lo que diversos cocteles de antibióticos han sido formulados y utilizados para la reducción o eliminación bacteriana de tejidos laminares tales como membrana amniótica, aloinjertos de piel de espesor parcial ^(2, 3), tejido cardiovascular ^(4, 5, 6, 7, 8), tráquea ⁽⁹⁾ y tejido osteotendinoso ⁽¹⁰⁾. Los antibióticos betalactámicos son fármacos esenciales y se incluyen en todos los procesos de descontaminación bacteriana. Químicamente, los cuatro grupos comparten la presencia de un anillo betalactámico (Figura 1).

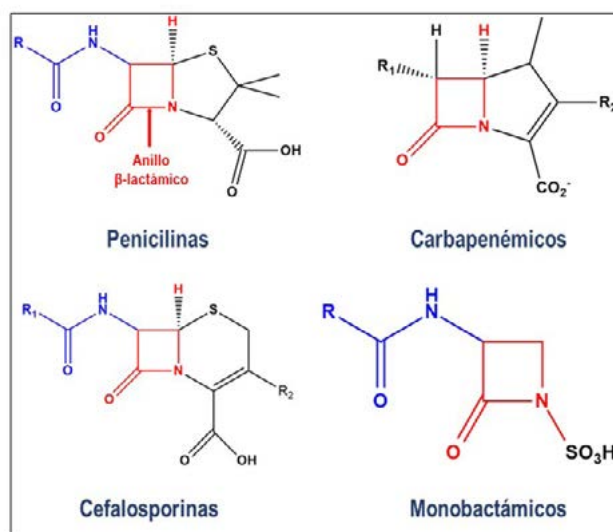


Figura 1. Estructura química de los antibióticos betalactámicos

Sin embargo, el uso de antibióticos betalactámicos, los inhibidores de la subunidades 30s y 50s; pueden tener algunos efectos sobre la replicación celular, metabolismo, la expresión génica y citotoxicidad celular en periodoncitos, osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos y células mesenquimales de estroma tal como se ha demostrado con algunas fluoroquinolonas, aminoglucósidos y betalactámicos^(11, 12, 13, 14, 15). En este artículo, reportamos el efecto de algunos antibióticos betalactámicos más utilizados en la descontaminación bacteriana de aloinjertos humanos con fines de trasplante sobre la proliferación celular de fibroblastos primarios humanos derivados de la piel de donantes multitejidos, con objeto de identificar posibles efectos en los tejidos sometidos a tratamiento de descontaminación con antibióticos.

2. Materiales y Métodos

II.A. Obtención de Fibroblastos Primarios Humanos.

Los fibroblastos primarios humanos (FPH) se obtuvieron mediante aislamiento a partir de aloinjertos de dermis procedentes de donantes multiorgánicos. Con el objetivo de garantizar la seguridad sanitaria de los tejidos y células, se realizó un tamizaje exhaustivo de un donante multitejido con pruebas serológicas negativas o no reactivas, de acuerdo a los criterios universales y nacionales de la Donación de órganos tejidos y células. Posterior a la obtención del tejido, se realizaron pruebas moleculares para la detección de ácidos nucleicos (NAT's) para la identificación de posibles patógenos. Tales como: el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), Citomegalovirus (CMV), el virus de Epstein Barr (EBV), los virus del

Herpes tipo 1 y 2 y 6 (HSV-1,2 y 6), Hepatitis B y C (HBV; HCV), Treponema pallidum (TP) y Mycobacterium tuberculosis (MT). La detección de estos agentes infecciosos se llevó a cabo mediante la plataforma de PCR en tiempo real (Sacase Biotehcnologies, Italy).

Una vez completado el perfil sanitario negativo del donante, el tejido obtenido fue sometido a un proceso de disgregación enzimática con colagenasa 1 y tripsina durante una hora a 37°C de acuerdo a protocolo estandarizado en el laboratorio.⁽⁸⁾ Una vez disgregadas, las células se cultivaron en un medio D-MEM (Invitrogen, USA) suplementado con un 10% de suero fetal bovino inactivado por calor (Biowest Corp; USA) y 5 mM de ácido ascórbico. El cultivo se mantuvo en un ambiente controlado con 5% de CO₂, 20% de O₂ y 100% de humedad, a una temperatura de 37°C, hasta alcanzar una confluencia celular del 80% en cajas de cultivo T-75 (Greiner BioOne Corp; Alemania). Finalizado el primer pase, las células se disgregaron y fueron sembradas sucesivamente hasta el pase número cinco. Una vez alcanzado este punto, las células fueron colectadas y almacenadas en nitrógeno líquido hasta el momento de la realización de los ensayos de exposición con fármacos.

II.B. Ensayo de exposición con fármacos.

Para determinar el efecto de los antibióticos beta-lactámicos, se sembraron 10x10³ FPH's en cajas de cultivo de 6 pozos con medio DMEM/F12 con 1% de Glutamina (Glutamax, Invitrogen, USA) y 10% de SFB inactivado por calor (Biowest Corp; USA). Las células se incubaron en condiciones de cultivo celular estandarizadas en el laboratorio para su adherencia. 24 horas después, el medio fue remplazado por medio fresco con antibiótico a diferentes concentraciones. Los antibióticos fueron probados a una dosis máxima terapéutica (dMax), una dosis mínima (dMin) y una dosis media (dMed) para los siguientes antibióticos: (1) ceftriaxona (Cefalosporina); (2) Clindamicina (Penicilina resistente a penicilinasa); (3) Vancomicina; y (4) Meropenem (Carbapénicos) (Tabla 1).

ANTIBIÓTICO	Dosis mínima dMin (ug/ml)	Dosis Media dMed (ug/ml)	Dosis Máxima dMax (ug/ml)
Ceftriaxona	20	30	50
Clindamicina	10	15	20
Meropenem	10	15	20
Vancomicina	10	15	20

Tabla 1. Tabla de fármacos evaluados. Se evaluaron dosis mínima (dMin), dosis media (dMed)y dosis máxima (dMax).

II.C. Ensayos de proliferación celular de FPHs.

Los FPH's fueron mantenidas en cultivo con cambio de medio fresco cada 24 hs y se fijaron con metanol a los días 1, 3, 5, 7, y 10 de tratamiento y secadas a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas con células fijadas fueron teñidas con cristal violeta al 1% durante 10 minutos, lavadas con agua estéril y secadas por 3 hs. Posteriormente fueron eluidas con ácido acético al 10% y los sobrenadantes fueron cuantificados a 520 nm de absorbancia en un multilector DTX800 de Beckman Coulter.

II.D. Análisis de datos y gráficas.

El análisis de datos se realizó con el programa Multimode Analysis Software (Beckman Coulter, USA) y el análisis estadístico se realizó con herramientas de análisis métricos y paramétricos.

3. Resultados

III.A. Efecto de la Ceftriaxona sobre la proliferación celular de FPH.

La ceftriaxona es una cefalosporina de tercera generación, utilizada ampliamente en algunos protocolos de desinfección y reducción de carga microbiana de tejidos, en particular en aloinjertos de piel con fines de trasplante.

La dMin (20 ug/ml) mostro un valor final al día 10 de 0.4420./506 nm de absorbancia El valor final es ligeramente inferior al control sin antibiótico. La dMed (30 ug/ml) 0.4730./506 nm el valor final es inferior al control, pero superior al de dMin. La dMax (50 ug/ml) 0.4770/506. El valor final es inferior al control (0.506 nm), pero el más alto de las dosis probadas al día 10. Sin embargo, el día 7 y 10 muestran una inhibición de la proliferación celular comparada con el control ($p<0.05$). Nótese que en los días 3 y 5; ninguna dosis muestra cambios significativos comparados con el grupo control (Figura 2).

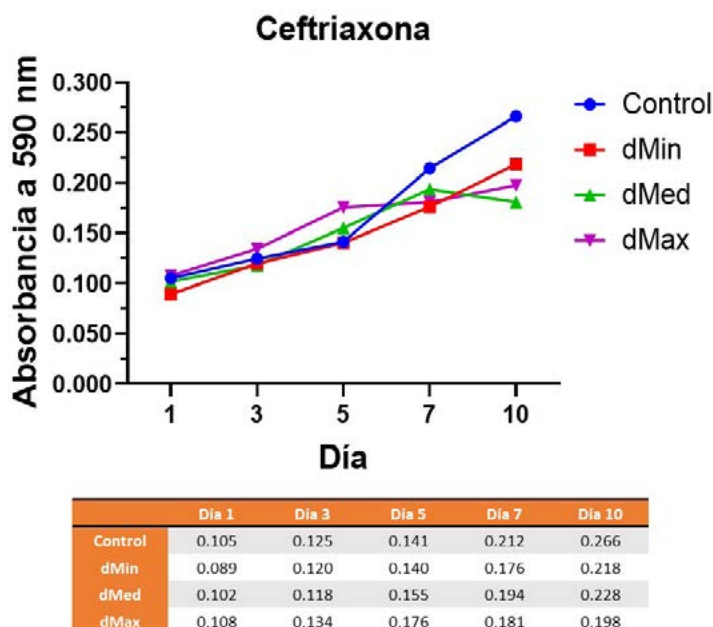


Figura 2. Gráfica de proliferación celular de FPH's expuestos a Ceftriaxona.

III.B. Efecto de la Clindamicina sobre la proliferación celular de FPH.

La clindamicina es una lincosamina utilizada ampliamente en algunos protocolos de desinfección y reducción de carga microbiana de tejidos, en particular en aloinjertos de piel con fines de trasplante. Los resultados obtenidos con la dMin (10 ug/ml) tuvo una absorbancia de 0.2110.230 nm, el valor final inferior al control.

La dMed (15 ug/ml) 0.2270/230 nm también mostro un valor final muy similar al control (0.230 nm). La dMax (20 ug/ml) fue de 0.2320/0.230. Este valor final es ligeramente superior al control (0.230 nm). Sin embargo, sugiere un efecto limitado o nulo de la dosis más alta sobre la proliferación celular.

Las concentraciones utilizadas en el ensayo, tampoco mostraron efectos significativos de reducción de crecimiento al día 3 y 5 en comparación con el control (Figura 3).

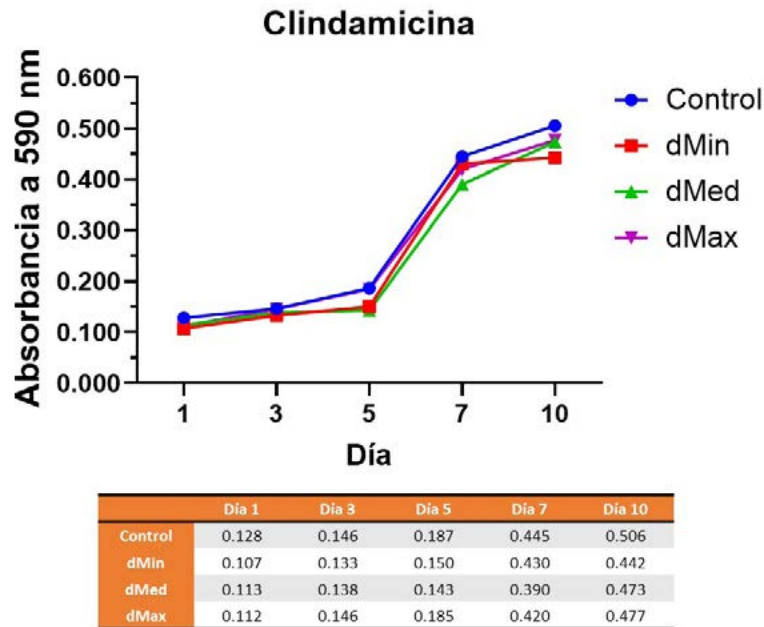


Figura 3. Gráfica de proliferación celular de FPH's expuestos a Clindamicina.

III.C. Efecto del Meropenem sobre la proliferación celular de FPH's.

En el caso del meropenem (carbapeno), la dMin (10 ug/ml) tuvo una lectura de 0.2180/256 nm, mostrando un valor final inferior al control (0.256 nm) (Figura 4).

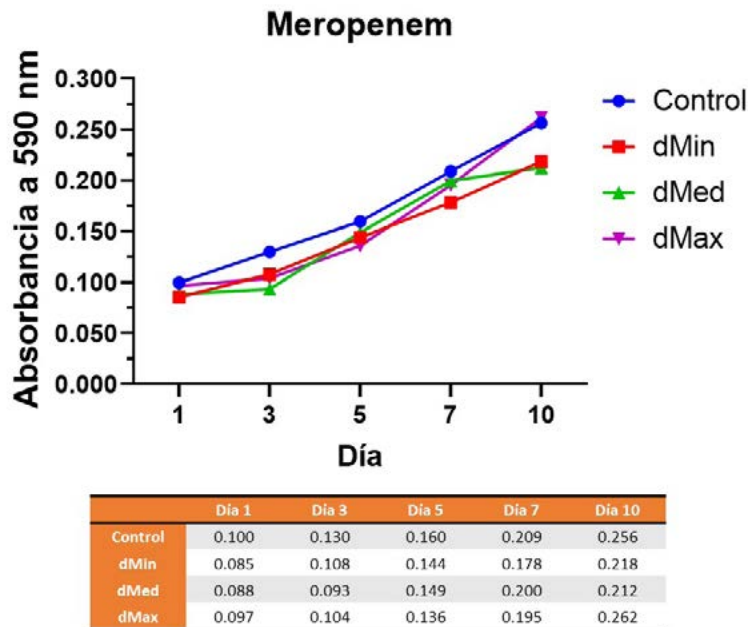


Figura 4. Gráfica de proliferación celular de FPH's expuestos a Meropenem.

La dMed (15 ug/ml) (0.2120/256) también tuvo un valor final los 10 días, inferior al control. La dMax (20 ug/ml) 0.2620.256, Este es el único caso donde la dosis máxima tiene un valor final superior al control (0.262 vs 0.256), lo cual es una observación crítica (podría sugerir una menor eficacia o un efecto atípico con la dosis más alta).

III.D. Efecto de la Vancomicina sobre la proliferación celular de FPH.

La vancomicina es un bloqueador de la síntesis de la pared celular bacteriana mediante su unión a los extremos D-alanil-D alanina de los peptidoglicanos. La vancomicina -al igual que la teicoplanina- inhibe el proceso de la transglicosilación de estos precursores, impidiendo su unión a las capas de peptidoglucano, resultando en una inestabilidad de la pared bacteriana. También inhibe la transpeptidación por un efecto estérico. La absorbancia de dMin (10 ug/ml) fue de 0.218/.266 nm muestra un valor final inferior al Control (0-266 nm), sugiriendo un efecto inhibitor o menor crecimiento celular en el día 10 (Figura 5).

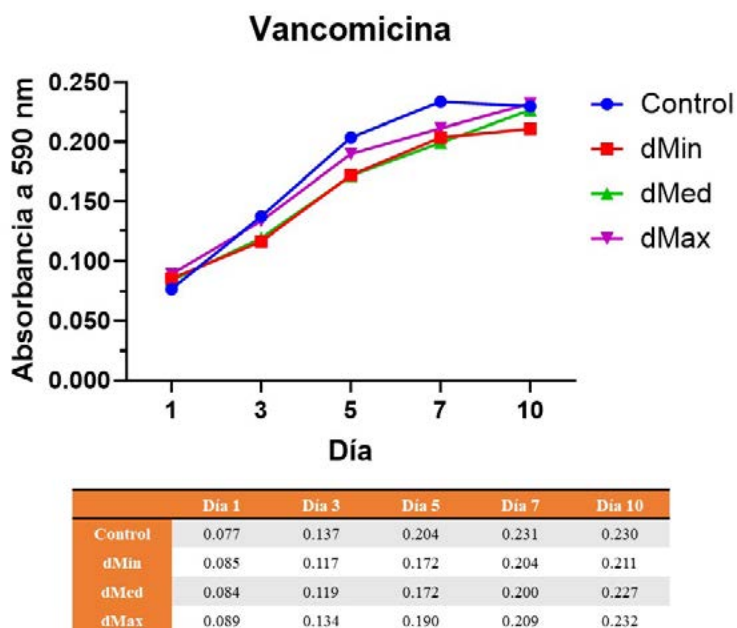


Figura 5. Gráfica de proliferación celular de FPH's expuestos a Vancomicina.

La dMed (15 ug/ml) 0.2280/266 mostro una lectura similar a la dosis mínima, el valor final es inferior al Control, manteniendo el efecto. La dMax (20 ug/ml) 0.1980/.266. La dosis máxima muestra el menor valor en el Día 10 (0.198), lo que indica el mayor efecto sobre la proliferación celular en comparación con las otras dosis y el control.

4. Discusión

Los antibióticos betalactámicos están constituidos por cuatro grupos genéricos importantes: Las penicilinas, las cefalosporinas, los carbapenems y los derivados del monobactam(16). Los cuatro grupos comparten la presencia de un anillo betalactámico.

Este anillo es esencial para su mecanismo de acción, ya que inhibe a la transpeptidasa y por consiguiente la transpeptidación de los peptidoglicanos, causando la lisis y muerte de la bacteria. Sin embargo, otros blancos de acción de los inhibidores de la síntesis de pared son las carboxipeptidasas como la vancomicina, que inhibe la transglicosilación de los peptidoglucanos.

En el caso de la ceftriaxona, no se encontraron datos de interacción con la replicación celular durante los días de exposición en las diferentes dosis, las cuales se mantuvieron similares al grupo control.

La biotransformación de la ceftriaxona es baja y en medio acuoso, tales como medios de cultivo, es bastante estable y no se degrada⁽¹⁷⁾. Su mecanismo de eliminación es principalmente por bilis y por orina en un 60%. Sin embargo, se han descrito efectos citotóxicos y la inducción de apoptosis en algunas células mesoteliales del peritoneo y en células de la glía ^(18,19,20).

Recientemente, se han descrito algunos efectos de betalactámicos como la amoxicilina sobre otras proteínas de la membrana celular tales como los transportadores polipeptídicos acoplados a protones (PEPT1 y PEPT2) en líneas celulares tumorales que son expuestas a cisplatino, mediante la amplificación de la generación de radicales libres en la mitocondria, disminución del potencial de membrana mitocondrial y los niveles de Fe2 ⁽²¹⁾. Sin embargo, estos efectos no se han encontrado en fibroblastos de pulmón.

Los resultados obtenidos sugieren que los FPH's expuestos a la ceftriaxona y la clindamicina mostraron una proliferación constante y alta, con valores de la dMed/dMax muy cercanos al control (0-473-0.477 nm).

Reportes previos han demostrado que la clindamicina incrementa la viabilidad de los osteoblastos humanos sin embargo no observamos ningún efecto en los FPH's durante los días de tratamiento ^(22 y 23). La vancomicina mostro una toxicidad dosis dependiente (dMax = 0.198), lo cual es congruente con lo reportado con otros grupos.

En el caso del meropenem los datos mostraron una toxicidad moderada (0.212-0.218 nm). La dosis máxima mostro un mayor crecimiento celular, lo cual puede ser resultado de un artefacto de manipulación, ya que las dosis mínima y media, son muy similares .

Se ha reportado que el meropenem, disminuye la producción de la interleucina 6 en células Huvec. Los efectos de la IL-6 son pleiotrópicos y pueden incrementar o inhibir la proliferación celular, en el caso de los fibroblastos, esto podría explicar la disminución de la proliferación de FPH's ^(24 y 25). Por otro lado; la vancomicina es sin duda el antimicrobiano más frecuentemente usado en pacientes quemados para otorgar cobertura antibacteriana contra los agentes mencionados, especialmente en unidades con pacientes críticos. Frecuentemente este antimicrobiano se asocia a otros, de acción anti bacilos gramnegativos, en una terapia empírica inicial para ampliar la cobertura antimicrobiana en los pacientes quemados.

El uso de la vancomicina, está dado por su eficacia en bacterias resistentes a meticilina. Actualmente es uno de los antibióticos más usados en los cócteles de antibióticos para la desinfección y preservación de aloinjertos de piel humana con fines de trasplante o implante temporal ⁽²⁶⁻²⁷⁾. Sin embargo, su asociación con aminoglucósidos puede inhibir la síntesis de proteínas a través del bloqueo de la subunidad 50'S (Dato no mostrado) creando un efecto sinérgico.

Con un peso molecular de 1,449 KD; la vancomicina pocas veces puede atravesar algunos espacios celulares con alto número de uniones estrechas, por lo que para que esto suceda, se requiere de un proceso inflamatorio o edema intersticial: Esta condición puede ser recreado durante el proceso de desinfección, ya que el medio líquido puede generar edema intersticial y mayor penetrancia del antibiótico en la dermis y el estrato corneo de la epidermis.

Finalmente, a pesar de que los antibióticos utilizados mostraron algún efecto significativo sobre inhibición de la proliferación se debe considerar que los procesos de recuperación biológica, se realizan en condiciones controladas de hipoxia durante 36 horas; lo que puede incrementar la generación de estrés oxidativo en presencia de antibióticos con ligera toxicidad, por lo que el uso de agentes estabilizantes de pH tales como el HEPES, y la L-glutamina, son útiles para mantener la estabilidad de la viabilidad celular en el proceso de desinfección. Se requieren otros ensayos de cócteles de antibióticos y cambios específicos en el ciclo celular.

Conclusión:

Las concentraciones mostradas en estos ensayos para determinar el efecto de los antibióticos betalactámicos (Ceftriaxona, clindamicina, meropenem y vancomicina) sobre la capacidad proliferativa de los fibroblastos expuestas a concentraciones mínima, máxima y media terapéutica, no tuvieron efecto significativo sobre la proliferación de fibroblastos primarios humanos, durante las primeras 72 hs a 37 °C. Ceftriaxona (dMed/dMax) y Clindamicina (dMax/dMed) son mostraron ser menos citotóxicos, ya que sus absorbancias son muy cercanas o superiores al Control, indicando mínima o nula toxicidad sobre la proliferación celular.

Por lo anterior, tales concentraciones, pueden utilizarse de manera segura en la generación de cocteles de antibióticos empleados en los procesos de desinfección isotónica de aloinjertos humanos con fines de trasplante en un período de hasta 5 días.

Considerando que la desinfección de tejidos comprende periodos de 36-48 hs, es decir antes del día 3; podemos concluir que no hay efecto sobre la proliferación celular en un modelo in vitro y que los tejidos sometidos a descontaminación bacteriana no presentan ningún efecto sobre la proliferación celular. Sin embargo, con objeto de no generar procesos de resistencia bacteriana, es recomendable personalizar el esquema de antibióticos de acuerdo a las condiciones clínicas del donante o del receptor. Se requieren otros ensayos de cócteles de antibióticos para determinar los posibles efectos en el ciclo celular como se han reportado en células mesenquimales, endoteliales con el uso de cefalosporinas, meropenem y de fluoroquinolonas en fibroblastos. ⁽²⁸⁾

Referencias

1. Martínez-Flores, F., Sandoval-Zamora, H., Machuca-Rodriguez, C., Barrera-López, A., García-Cavazos, R., & Madinaveitia-Villanueva, J. A. (2016). Banco de piel y tejidos: un modelo operativo para la recuperación y preservación de aloinjertos de piel y tejidos [Skin and tissue bank: Operational model for the recovery and preservation of tissues and skin allografts]. *Cir y cir*, 84(1), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.06.021>
2. Martínez-Flores, F., Chacón-Gómez, M., Madinaveitia-Villanueva, J. A., Barrera-Lopez, A., Aguirre-Cruz, L., & Querevalu-Murillo, W. (2015). El uso clínico de aloinjertos de piel humana criopreservados con fines de trasplante [The clinical use of cryopreserved human skin allografts for transplantation]. *Cir y cir*, 83(6), 485–491. <https://doi.org/10.1016/>
3. Lim, K., Yoon, C. and Lee, J. (2017) Antimicrobial Effect of Skin for Allograft and management in Burn Wound. *Open Journal of Organ Transplant Surgery*, 7, 1-11. <https://doi.org/10.4236/ojots.2017.7100>.
4. Paolin A, Spagnol L, Battistella G, Trojan D. Evaluation of allograft decontamination with two different antibiotic cocktails at the Treviso Tissue Bank Foundation. *PLoS One*. 2018 Aug 2;13(8):e0201792. doi: 10.1371/journal.pone.0201792.
5. Serafini A, Riello E, Trojan D, Cogliati E, Palù G, Manganelli R, Paolin A. Evaluation of new antibiotic cocktails against contaminating bacteria found in allograft tissues. *Cell Tissue Bank*. 2016 Dec;17(4):619-628. doi: 10.1007/s10561-016-9581-6.
6. Germain M, Thibault L, Jacques A, Tremblay J, Bourgeois R. Heart valve allograft decontamination with antibiotics: impact of the temperature of incubation on efficacy. *Cell Tissue Bank*. 2010 May;11(2):197-204. doi: 10.1007/s10561-009-9155
7. Suss PH, Ribeiro VST, Cieslinski J, Kraft L, Tuon FF. Experimental procedures for decontamination and microbiological testing in cardiovascular tissue banks. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018 Dec;243(17-18):1286-1301. doi: 10.1177/1535370218820515.
8. Montagner G, Barbazza A, Lugas AT, Terzini M, Serino G, Bignardi C, Cacciatore M, Vida VL, Padalino MA, Trojan D. Decellularized cryopreserved human pericardium: a validation study towards tissue bank practice. *Cell Tissue Bank*. 2024 Jun;25(2):401-410. doi: 10.1007/s10561-023-10072-6
9. Stocco E, Barbon S, Mammana M, Trojan D, Bianchin A, Favaretto F, Contran M, Zambello G, Vogliardi A, Confalonieri M, Todros S, Pavan PG, Romanato F, Conconi MT, Macchi V, De Caro R, Rea F, Porzionato A. Cells. Development and In Vitro/In Vivo Comparative Characterization of Cryopreserved and Decellularized Tracheal Grafts. 2023 Mar 13;12(6):888. doi: 10.3390/cells12060888
10. Aratikatla A, Maffulli N, Rodriguez HC, Gupta M, Potty AG, Gupta A. Allogenic Perinatal Tissue for Musculoskeletal Regenerative Medicine Applications: A Systematic Review. *Biomedicines*. 2022 Dec 7;10(12):3173. doi:10.3390/biomedicines10123173.PMID: 36551929Free PMC article.Review.
11. Wiesli, M. G., Kaiser, J. P., Gautier, E., Wick, P., Maniura-Weber, K., Rottmar, M., & Wahl, P. (2021). Influence of ceftriaxone on human bone cell viability and in vitro mineralization potential is concentration- and time-dependent. *Bone & joint research*, 10(3), 218–225. <https://doi.org/10.1302/2046-3758.103.BJR-2020-0412>
12. Antoci, V., Jr, Adams, C. S., Hickok, N. J., Shapiro, I. M., & Parvizi, J. (2007). Antibiotics for local delivery systems cause skeletal cell toxicity in vitro. *Clinical orthopaedics and related research*, 462, 200–206. <https://doi.org/10.1097/BLO.0b013e31811ff866>
13. Edin, M. L., Miclau, T., Lester, G. E., Lindsey, R. W., & Dahners, L. E. (1996). Effect of cefazolin and vancomycin on osteoblasts in vitro. *Clinical orthopaedics and related research*, (333), 245–251.

14. Olvera-Huertas, A. J., Costela-Ruiz, V. J., García-Recio, E., Melguizo-Rodríguez, L., Illescas-Montes, R., Reyes-Botella, C., & Manzano-Moreno, F. J. (2022). The Effect of Chlorhexidine, Amoxicillin, and Clindamycin on the Growth and Differentiation of Primary Human Osteoblasts. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 37(2), 283–288. <https://doi.org/10.11607/jomi.9253>
15. Kubo, H., Czerwinski, S., Schrupf, H., Buhren, B., Prodinger, P., Krauspe, R., & Pilge, H. (2021). Rifampicin has - Compared to clindamycin - A dose and time dependent effect on hMSCs during osteogenic differentiation in vitro. *Journal of orthopaedics*, 26, 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.jor.2021.07.005>
16. Lima LM, Silva BNMD, Barbosa G, Barreiro EJ. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *Eur J Med Chem*. 2020;208:112829. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112829
17. Lee, S. G., Su, Z. Z., Emdad, L., Gupta, P., Sarkar, D., Borjabad, A., Volsky, D. J., & Fisher, P. B. (2008). Mechanism of ceftriaxone induction of excitatory amino acid transporter-2 expression and glutamate uptake in primary human astrocytes. *The Journal of biological chemistry*, 283(19), 13116–13123. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707697200>
18. Sung, P. H., Yin, T. C., Chiang, J. Y., Chen, C. H., Huang, C. R., Lee, M. S., & Yip, H. K. (2024). Synergic effect of combined xenogeneic mesenchymal stem cells and ceftriaxone on acute septic arthritis. *Stem cells translational medicine*, 13(8), 724–737. <https://doi.org/10.1093/stcltm/szae034>
19. Dubey, N., Xu, J., Zhang, Z., Nör, J. E., & Bottino, M. C. (2019). Comparative Evaluation of the Cytotoxic and Angiogenic Effects of Minocycline and Clindamycin: An In Vitro Study. *Journal of endodontics*, 45(7), 882–889. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.04.007>
20. Bumedien-Abdelgani, H., Manzano-Moreno, F. J., González-Acedo, A., García-Recio, E., Ruiz, C., & de Luna-Bertos, E. (2025). Effect of clindamycin on human osteoblasts treated with zoledronate: An in vitro study. *Archives of oral biology*, 174, 106247. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2025.106247>
21. Takami, Y., Tomita, K., Igarashi, K., Kuwahara, Y., Kitanaka, J., Kitanaka, N., Roudkenar, M. H., Roushandeh, A. M., Saijo, H., Kurimasa, A., & Sato, T. (2025). Amoxicillin, a β -lactam antibiotic, enhances cisplatin sensitivity in cancer cells affecting mitochondria. *Biochemical and biophysical research communications*, 766, 151888. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2025.151888>
22. Armengol Álvarez, L., Van de Sijpe, G., Desmet, S., Metsemakers, W.-J., Spriet, I., Allegaert, K., & Rozenski, J. (2022). Ways to Improve Insights into Clindamycin Pharmacology and Pharmacokinetics Tailored to Practice. *Antibiotics*, 11(5), 701. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050701>
23. Armbruster C, Vorbach H, Robibaro B, et al. Effects of imipenem and meropenem on purine content of endothelial cells. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1999;37(2):86-89.
24. Arditi M, Zhou J. Differential antibiotic-induced endotoxin release and interleukin-6 production by human umbilical vein endothelial cells (HUVECs): amplification of the response by coincubation of HUVECs and blood cells. *J Infect Dis*. 1997;175(5):1255-1258. doi:10.1086/593689
25. Tsuji, K., Kimura, S., Tateda, K., & Takahashi, H. (2023). Protective effect of teriparatide against vancomycin-induced cytotoxicity in osteoblasts. *Journal of orthopaedic science : official journal of the Japanese Orthopaedic Association*, 28(6), 1384–1391. <https://doi.org/10.1016/j.jos.2022.09.018>

26. Stevens D. L. (2006). The role of vancomycin in the treatment paradigm. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 42 Suppl 1, S51–S57. <https://doi.org/10.1086/491714>
27. Braun, J., Eckes, S., Rommens, P. M., Schmitz, K., Nickel, D., & Ritz, U. (2020). Toxic Effect of Vancomycin on Viability and Functionality of Different Cells Involved in Tissue Regeneration. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(5), 238. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050238>
28. Francisco Martínez-Flores; Reyna Barrera López; Elizabeth Arce de la Vega; Héctor E Montes-Izunsá; Lucinda Aguirre-Cruz; Juan A Madinaveitia Villanueva; Omar F Carrasco. La inhibición del promotor Egr-1 inducida por ciprofloxacino es revertida por EGF-1 en fibroblastos humanos. *Farmacología*. 2024;(3)1: 26-37. <https://dx.doi.org/10.58713/rf.v3i1.4>