

**DOI:**

<b>Title:</b>	EFFECT OF ESCITALOPRAM ALONE OR COMBINATION WITH SORAFENIB ON HEPG2 HEPATOCELLULAR CELL LINE PROLIFERATION
<b>Authors:</b>	Zeynep Gunes OZUNAL Yaprak DONMEZ CAKIL Esra SAGLAM Ranan Gulhan AKTAS

**Section:** MEDICAL SCIENCES

**Issue:** 1(19)/2020

<b>Received:</b> 03 February 2020	<b>Revised:</b> No
<b>Accepted:</b> 06 March 2020	<b>Available Online:</b> 15 March 2020

Paper available online [HERE](#)

## **EFFECT OF ESCITALOPRAM ALONE OR COMBINATION WITH SORAFENIB ON HEPG2 HEPATOCELLULAR CELL LINE PROLIFERATION**

**Zeynep Gunes OZUNAL<sup>1</sup>**  
**Yaprak DONMEZ CAKIL<sup>2</sup>**  
**Esra SAGLAM<sup>3</sup>**  
**Ranan Gulhan AKTAS<sup>4</sup>**

### **ABSTRACT:**

*HEPATOCELLULAR CARCINOMA IS ONE OF THE MOST COMMON CANCERS. THE MAIN TREATMENT FOR HEPATOCELLULAR CANCERS IS SURGERY. DRUG TREATMENT CAN BE PERFORMED IN ADVANCED CASES AFTER SURGICAL TREATMENT OR RELAPSE THERAPY. SORAFENIB IS A DRUG THAT IS USED PRIMARILY IN THE TREATMENT OF HEPATOCELLULAR CANCER. ESCITALOPRAM IS A DRUG IN THE SEROTONIN REUPTAKE INHIBITOR GROUP USED TO TREAT DEPRESSION. THERE ARE STUDIES SHOWING THE EFFECT OF ESCITALOPRAM ON PROLIFERATION. THE PURPOSE OF THIS STUDY IS TO EVALUATE THE USE OF ESCITALOPRAM ALONE AND IN COMBINATION WITH SORAFENIB IN LIVER CANCER. THE EFFECT OF ESCITALOPRAM AND IN COMBINATION ON PROLIFERATION OF HEPATOCELLULAR CELL LINES WAS ASSESSED BY XTT PROLIFERATION ASSAY. THE HALF INHIBITING CONCENTRATION (IC 50) WAS CALCULATED BY REGRESSION ANALYSIS, PHOTOGRAPHED UNDER AN INVERTED MICROSCOPE. THE SYNERGISTIC EFFECT HAS BEEN EVALUATED. THE EFFECT ON MORPHOLOGICAL CHANGES WAS VISUALIZED UNDER THE INVERTED MICROSCOPE. THE RESULTS OF OUR STUDY CONFIRM THE SYNERGISTIC EFFECT OF USE OF ESCITALOPRAM IN COMBINATION WITH SORAFENIB IN LIVER CANCER. PROSPECTIVE RANDOMIZED TRIALS ARE NEEDED TO EVALUATE ITS CLINICAL USE.*

**KEY WORDS:** ESCITALOPRAM, HEPG2, PROLIFERATION, SORAFENIB, CANCER

### **INTRODUCTION**

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le cinquième cancer le plus répandu dans le monde.

<sup>1</sup> Maltepe University, Faculty of Medicine, *Medical Pharmacology Department*; Maltepe University, Faculty of Medicine, Cancer and stem cell research center, (MUKKAM);

Corresponding Author: Assist Prof. MD. Zeynep Gunes Ozunal

<sup>2</sup> Maltepe University, Faculty of Medicine, *Histology and Embryology Department*; Maltepe University, Faculty of Medicine, Cancer and stem cell research center, (MUKKAM)

<sup>3</sup> Maltepe University, Faculty of Medicine, *Medical Pharmacology Department*

<sup>4</sup> Maltepe University, Faculty of Medicine, *Histology and Embryology Department*; Maltepe University, Faculty of Medicine, Cancer and stem cell research center, (MUKKAM)

C'est la troisième cause de décès de cancer dans le monde <sup>5</sup>. Chez les femmes, il occupe le 9<sup>ème</sup> rang mondial. Le traitement systémique à la doxorubicine s'est révélé partiellement bénéfique sans augmentation de la survie. D'autres traitements tels que l'immunothérapie, les radiations internes et le tamoxifène n'ont pas montré d'effet antitumoral ou n'ont pas affecté la survie du CHC <sup>6</sup>. Le sorafénib montre son effet en inhibant de nombreuses kinases efficaces dans la prolifération des tumeurs et l'angiogenèse <sup>7</sup>. Il a été démontré que le sorafénib prolongeait la survie des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire avancé <sup>8</sup>. Il a été approuvé par la FDA en 2007 pour les patients atteints d'un CHC avancé et est maintenant devenu le traitement de référence pour ces patients <sup>9</sup>. Le repositionnement d'un médicament est l'évaluation de l'utilisation de médicaments à l'efficacité clinique et à l'innocuité démontrées dans une nouvelle indication <sup>10</sup>. C'est l'une des méthodes permettant de réduire les coûts et d'accélérer la transmission du médicament à la clinique pendant le processus de développement du médicament. Dans cette étude, l'effet de l'escitalopram sur la prolifération cellulaire et la morphologie du cancer du foie sera évalué. L'escitalopram est l'énantiomère (S) du citalopram, un inhibiteur de la recapture de la sérotonine (ISRS) sélectif racémique. Lorsqu'il est administré par voie orale, il est rapidement absorbé et atteint sa concentration plasmatique maximale en environ de 3-4 heures. La concentration à l'état d'équilibre est atteinte dans les 7 à 10 jours. Sa demi-vie est de 27 à 30 heures<sup>11</sup>. La sélectivité de l'escitalopram s'est avérée supérieure à celle de certains autres ISRS. L'efficacité de l'escitalopram s'est avérée supérieure ou égale à celle d'autres médicaments ISRS et inhibiteurs sélectifs de la recapture de la noradrénaline (IRSN). Les effets indésirables causés par l'escitalopram sont légers, transitoires et donc tolérables <sup>12</sup>. En outre, l'effet inhibiteur de l'escitalopram sur les enzymes du CYP et la glycoprotéine P étant inférieur à celui des autres médicaments, le risque d'interaction médicamenteuse est donc inférieur à celui des autres ISRS fréquemment prescrits <sup>13</sup>. Le but de cette étude était d'évaluer l'utilisation de l'escitalopram seul et en association avec le sorafénib dans le cancer du foie.

## **MATÉRIEL ET METHODES**

### **Culture de cellules**

Des cellules HepG2 isolées chez un malade chez lequel un carcinome hépatocellulaire a été diagnostiqué (American Type Culture Collection, États-Unis) ont été utilisées dans notre étude.

<sup>5</sup> Raza A, Sood GK. Hepatocellular carcinoma review: current treatment, and evidence-based medicine. *World J Gastroenterol* 2014; 20: p. 4115-27.

<sup>6</sup> Llovet JM. Updated treatment approach to hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2005; 40: p. 225-35.

<sup>7</sup> Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma 2008; *N Engl J Med* 359: p. 378-90.

<sup>8</sup> Bruix J, Raoul JL, Sherman M, Mazzaferro V, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: subanalyses of a phase III trial. *J Hepatol* 2012;57: p. 821-829

<sup>9</sup> Villanueva A, Llovet JM. Targeted therapies for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2011; 140:1410-26. doi: 10.1053/j.gastro.2011.03.006. Epub 2011 Mar 13.

<sup>10</sup> Li YY, Jones SJ. Drug repositioning for personalized medicine. *Genome Med* 2012; 4: 27.

<sup>11</sup> Rao N. The clinical pharmacokinetics of escitalopram. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46: 281-90.

<sup>12</sup> Kirino E. Escitalopram for the management of major depressive disorder: a review of its efficacy, safety, and patient acceptability. *Patient Prefer Adherence* 2012; 6: 853.

<sup>13</sup> Sanchez C, Reines EH, Montgomery SA. A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline: Are they all alike? *Int Clin Psychopharmacol*. 2014; 29:185-96. doi:10.1097/YIC.000000000000023.

Les cellules ont été cultivées dans du milieu DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium) de contenant 10% de sérum de veau foetal (FBS) et 1% d'antibiotique (Streptomycine 10 mg / ml et Pénicilline 10 000 U / ml). Les cellules ont été stockées dans un incubateur humidifié avec 5% de CO<sub>2</sub> à 37 ° C. Lorsque les cellules ont atteint une densité de 70-80%, elles ont été passées par trypsination dans des conditions stériles.

### **Evaluation de la prolifération cellulaire**

Le kit de prolifération cellulaire XTT (Biological Industries, USA) a été utilisé pour mesurer la prolifération cellulaire. Le test est une méthode colorimétrique à base de sel de tétrazolium.

La procédure biochimique est basée sur une activité des enzymes mitochondriales, qui deviennent inefficaces peu de temps après la mort cellulaire. La densité mesurée est proportionnelle au nombre de cellules métaboliquement actives. Les cellules ont été colorées avec du bleu trypan, comptées avec une lame de thoma et étalées à 10 000 cellules / puits dans une plaque à 96 puits. Le lendemain, de l'escitalopram seul ou associé au sorafénib a été ajouté aux cellules du milieu et incubé pendant 24 heures.

La concentration maximale d'escitalopram appliquée aux cellules était de 300 µM et la concentration maximale de sorafénib était de 50 µM. Le taux de dilution concerne les deux médicaments. Après incubation, du réactif XTT a été ajouté et après 4 heures d'incubation, la densité optique du produit soluble dans chaque puits a été mesurée à 500 nm avec le lecteur de plaques à 96 puits Synergy Lecteurs de microplaques par absorbance.

La concentration en inhibiteur (CI 50) a été déterminée pour escitalopram avec cette méthode.

La CI 50 a été définie comme la concentration du médicament qui a réduit la prolifération cellulaire à 50% des cellules témoins non traitées. La valeur de CI50 a été calculée par analyse de régression non linéaire

SynergyFinder (<https://synergyfinder.fimm.fi>), une application Web développée pour analyser les données de la matrice de réponse à la dose du médicament, a été utilisée pour déterminer l'effet combiné de l'escitalopram - sorafénib. Le degré d'effet d'une combinaison de médicaments peut être visualisé sous la forme d'une carte de synergie sur la matrice de dose<sup>14</sup>. Le modèle d'indépendance de Bliss accepte un processus stochastique dans lequel les effets des deux médicaments se produisent indépendamment et l'effet de combinaison attendu peut être calculé en fonction de la probabilité d'événements indépendants. Cette étude est basée sur le modèle de référence d'indépendance de Bliss<sup>15</sup>.

### **Évaluation de la morphologie cellulaire**

Les groupes de traitement et le groupe témoin ont été évalués pour la morphologie cellulaire par microscopie à contraste de phase (PrimoVert Invert, Zeiss).

## **RÉSULTATS**

### **Effet antiprolifératif de l'escitalopram**

L'effet antiprolifératif de l'escitalopram sur les cellules HepG2 a été déterminé par le test de prolifération cellulaire XTT. La dose maximale est de 300 µM et la dose minimale de 23 µM.

<sup>14</sup> Ianevski A, He L, Aittokallio T, Tang J. SynergyFinder: a web application for analyzing drug combination dose-response matrix data. *Bioinformatics* 2017; 33:2413-15. doi:10.1093/bioinformatics/btx162.

<sup>15</sup> Bliss CI. The toxicity of poisons applied jointly. *Ann App Biol* 1939; 26: 585-615

Des concentrations décroissantes de médicament avec un taux de dilution de  $\frac{3}{4}$  ont été appliquées aux cellules. La relation entre les différentes concentrations d'escitalopram et la réponse antiproliférative des cellules est illustrée à la figure 1a. Le graphique montre une diminution progressive de la prolifération cellulaire avec l'augmentation des concentrations d'escitalopram. La vale  $P=100$  - viabilité% (Figure 1)

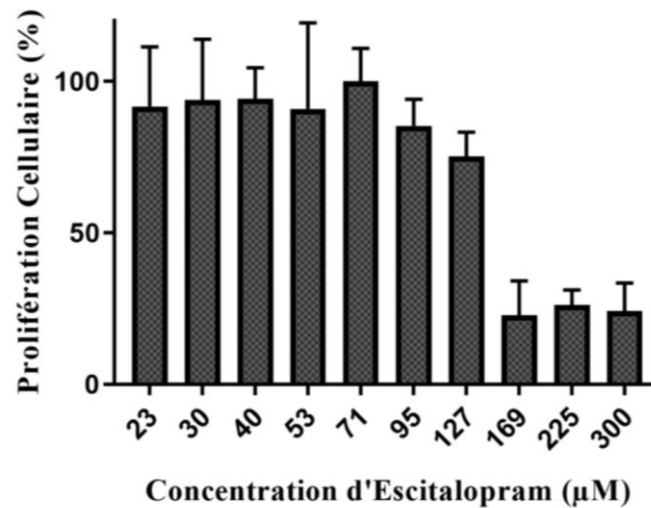


Figure 1: Effet antiprolifératif de l'escitalopram sur les cellules HepG2. Les données représentent 3 expériences et sont exprimées en moyenne  $\pm$  erreur type

### Effet antiprolifératif de la combinaison d'escitalopram et sorafénib sur la morphologie cellulaire

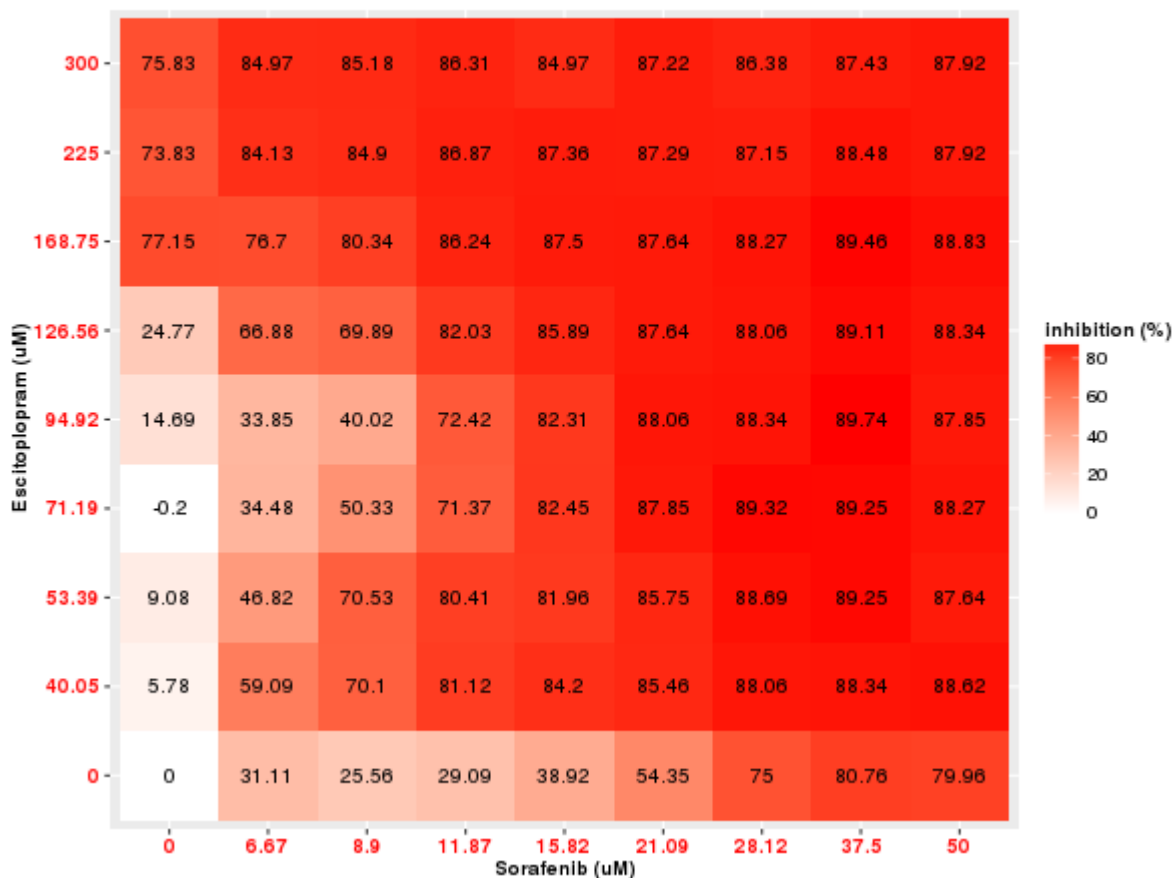
Dans le cas de l'administration combinée de médicaments, si A et B ont chacun un effet, ils peuvent alors produire un effet synergique, additif ou antagoniste en combinaison. Par définition, effet synergique; L'effet combiné des médicaments A et B a considérablement augmenté par rapport à l'effet de chaque médicament seul. Par conséquent, il y a une interaction positive. À effet antagoniste; L'effet combiné des médicaments A et B était significativement réduit par rapport à l'effet de chaque médicament seul; il existait donc une interaction négative. L'effet additif est défini comme la somme des effets individuels de l'effet obtenu par la combinaison de médicaments<sup>16</sup>. Définir l'effet additif est le critère le plus important pour définir l'effet synergique et antagoniste<sup>17</sup>. L'application SynergyFinder met en évidence les régions de dose des synergistes et des antagonistes en rouge et vert, respectivement, sur la carte de synergie 2D. Le score de synergie d'une combinaison de médicaments est moyenné sur toutes les cellules à combinaison de doses (Figure 2). Le valeur de CI50 pour l'escitalopram dans les applications il a été de 130 µM (Figures 1). Lorsque ces deux médicaments ont été administrés ensemble, l'escitalopram à 71,2 µM et le sorafénib à 8,9 µM ont réduit la prolifération cellulaire jusqu'à 50% des cellules témoins. Ceci indique un effet synergique pour les deux médicaments, comme le montrent les figures 2A et 2B. Le score de synergie moyen est de 22, 3. La zone avec l'effet le plus synergique est

<sup>16</sup> Aktaş G. Antibiotic Combinations and Synergistic Interactions. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015; 44: 47-55.

<sup>17</sup> Chou TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 621-81.

marquée par des lignes en pointillés sur la figure 2. Cette zone couvre les plages de doses de 40,1  $\mu\text{M}$  et de 71,2  $\mu\text{M}$  pour l'escitalopram, ainsi que de 8,9 et 8,8 et 15,8  $\mu\text{M}$  de sorafénib.

**Sorafenib & Escitoplopram**  
**Dose-response matrix (inhibition)**





Bliss synergy score: 21.291

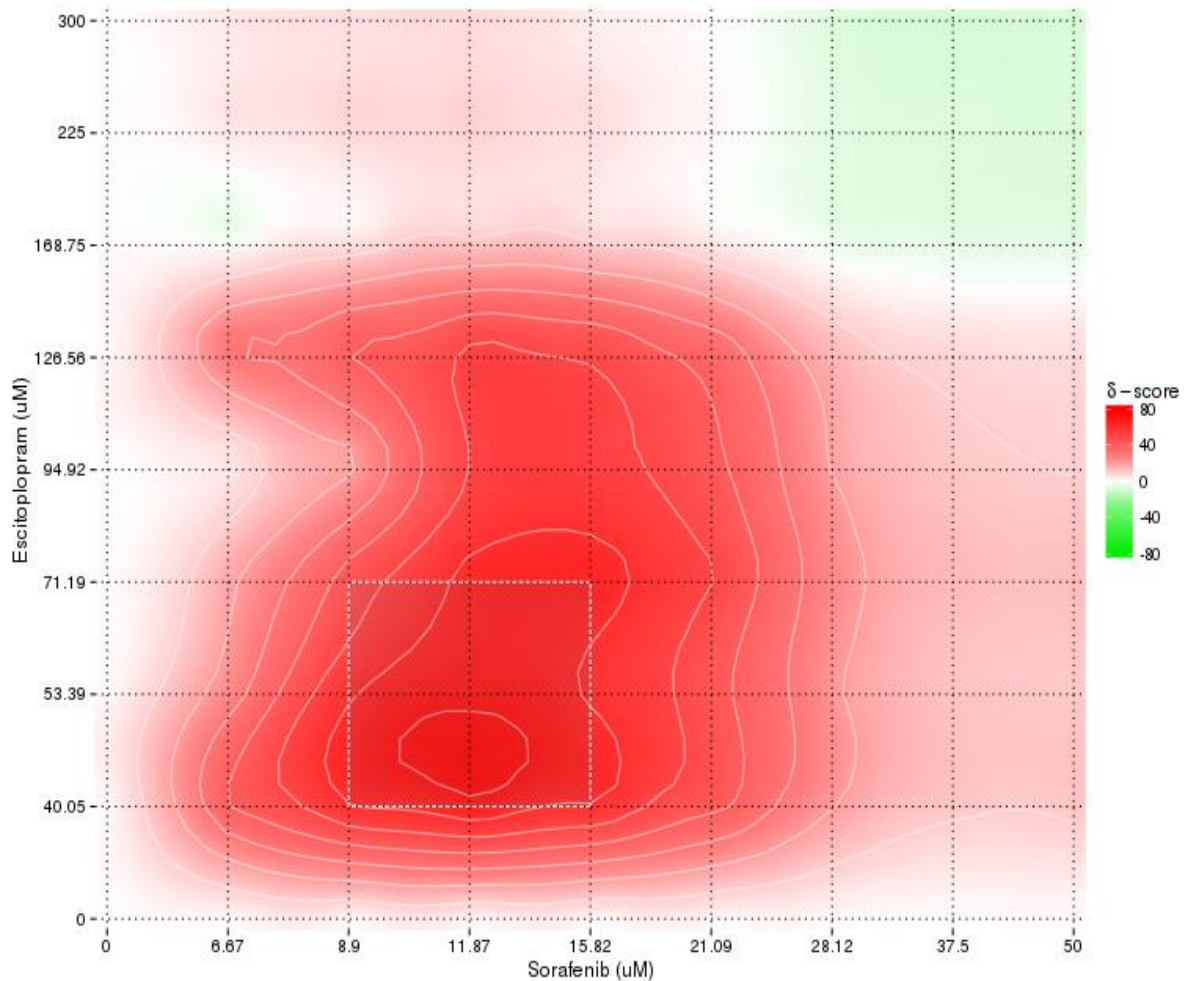
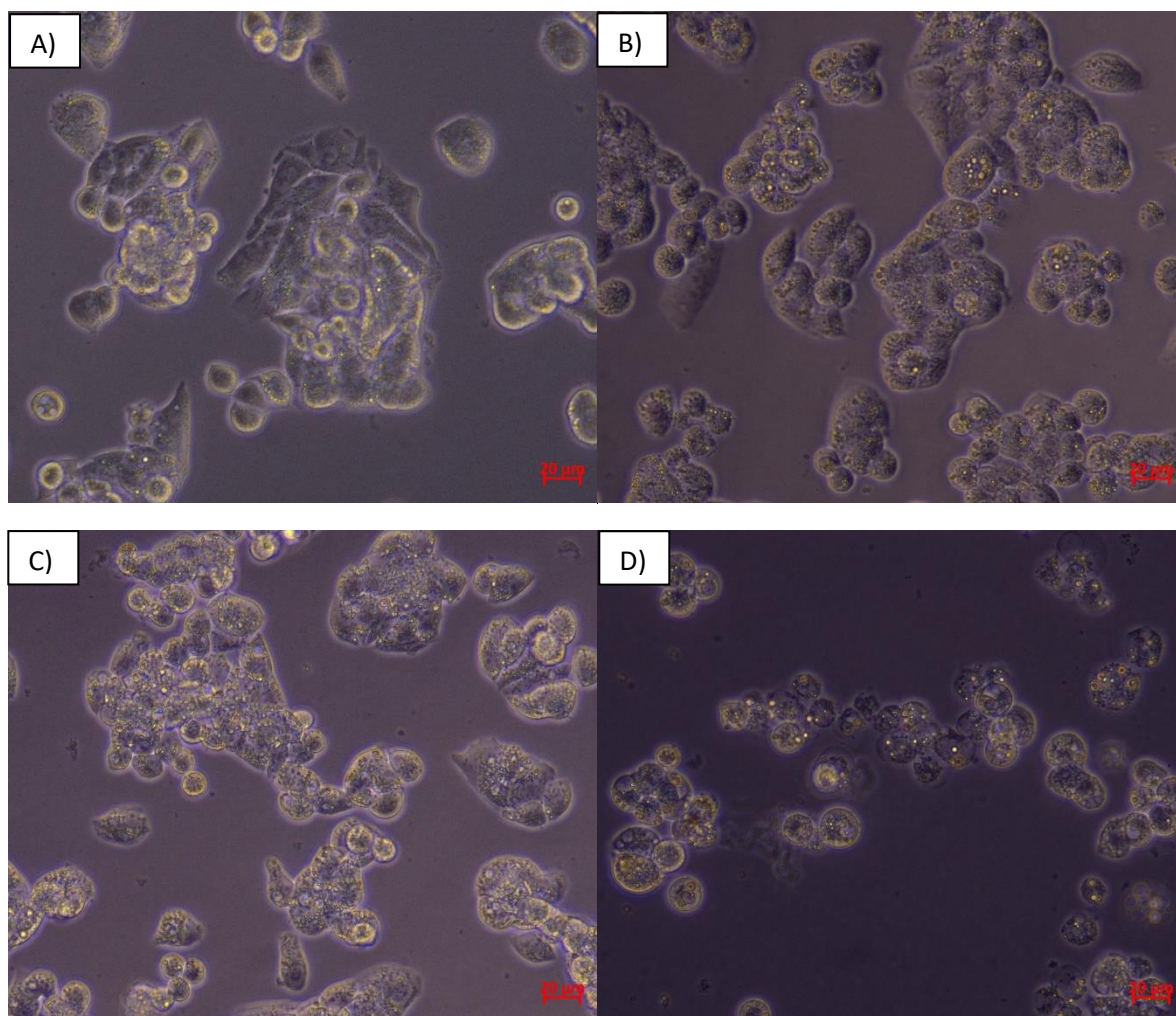


Figure 2: a) % de valeurs d'inhibition calculées par l'application de SynergyFinder. Il montre la relation entre différentes concentrations d'escitalopram et de sorafénib dans différentes combinaisons et réponse antiproliférative. b) Carte de synergie 2D et score de synergie moyen. La zone avec l'effet le plus synergique est indiquée par des lignes pointillées.

### L'effet de la combinaison d'escitalopram et sorafénib sur la morphologie cellulaire

La morphologie des cellules traitées avec le médicament a été évaluée par microscopie à contraste de phase avec le groupe témoin. Seules les cellules traitées à l'escitalopram ou au sorafénib sont rétrécies et plus petites que les cellules saines témoins (figures 3A, B et C). De plus, des cellules se développant sur les cellules (bulles) et les vacuoles dans le cytoplasme des cellules sont observées.



*Figure 3: Les cellules traitées avec le groupe control (A), le sorafénib uniquement (B), l'escitalopram uniquement (C) La combinaison d'escitalopram et de sorafénib (D) ont été évaluées pour leur morphologie par microscopie à contraste de phase*

## DISCUSSION

Retour de vieux médicaments, repositionnement d'eux est devenu une découverte de médicaments attrayante. Le repositionnement des médicaments a représenté environ 30% des médicaments et vaccins approuvés par la Food and Drug Administration (FDA) au cours des dernières années<sup>18</sup>. La pharmacothérapie pour la dépression s'est développée au cours des 30 dernières années. Les antidépresseurs les plus couramment utilisés, notamment les inhibiteurs sélectifs du recaptage de la sérotonine (ISRS) et les inhibiteurs du recaptage de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN), ont été approuvés pour une utilisation de la fin des années 1980 à la fin des années 2000. L'escitalopram, l'énantiomère S du citalopram, a été introduit en 2002 est constitue le plus récent ISRS<sup>9</sup>. Dans une récente méta-analyse

<sup>18</sup> Jin G, Wong ST. Toward better drug repositioning: prioritizing and integrating existing methods into efficient pipelines. *Drug Discov Today* 2014;19:637-44. doi:10.1016/j.drudis.2013.11.005. Epub 2013 Nov 14.



comparant l'efficacité et l'acceptabilité de antidépresseurs dans le traitement aigu de l'adulte présentant un trouble dépressif majeur, l'escitalopram s'est révélé très efficace et acceptable<sup>19</sup>. Le sorafénib est un inhibiteur oral de la multikinase en qui s'est révélé efficace dans les essais cliniques de phase III chez des patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire avancé (HCC)<sup>4</sup>. Après le sorafénib, l'utilisation clinique a été approuvée pour l'indication pertinente. La dépression est une comorbidité fréquente dans les cas de cancer et affecte plus de 10% des patients<sup>20</sup>. Différents antidépresseurs sont utilisés pour traiter la dépression chez ces patients. L'escitalopram est un inhibiteur faible ou négligeable du CYP2D6 et il est peu probable qu'il interagisse avec les médicaments anticancéreux<sup>21</sup>. Des études récentes ont montré que l'escitalopram induit l'apoptose dans la culture cellulaire et réduit la prolifération<sup>22,23,24</sup>. Un effet antiprolifératif similaire a été démontré dans l'expérimentation animale<sup>20</sup>. Pour ces raisons, l'escitalopram peut être administré en association avec d'autres agents anticancéreux pour le traitement clinique du cancer. Dans cette étude, l'escitalopram administrés seuls ou ensemble avec sorafénib à des cellules HepG2 dans une large gamme de doses. La valeur IC50 de l'escitalopram était de 130  $\mu\text{M}$  par le test de prolifération cellulaire XTT. Kuwahara et ses collaborateurs ont précédemment rapporté cette valeur à 94,8  $\mu\text{M}$  dans une étude portant sur des cellules HepG2. En revanche, la cytotoxicité a été évaluée avec le sel monosodique de 2- (2-méthoxy-4-nitrophényl) -3- (4-nitrophényl) -5- (2,4-disulfophényl) -2H-tétrazolium (WST-8)<sup>19</sup>. Dans les cellules de glioblastome, la valeur de CI50 de l'escitalopram a été calculée à 107  $\mu\text{M}$  après 48 heures par le test de prolifération des cellules MTT<sup>18</sup>. La combinaison d'escitalopram et de sorafénib a un effet synergique. La plage de doses de 40,1  $\mu\text{M}$  et 71,2  $\mu\text{M}$  pour l'escitalopram et les gammes de doses de 8,9  $\mu\text{M}$  et 15,8  $\mu\text{M}$  pour le sorafénib sont considérées comme l'effet le plus synergique. Par rapport aux effets d'un médicament seul, des concentrations plus faibles de sorafénib et d'escitalopram se sont avérées efficaces pour inhiber la prolifération cellulaire dans les applications combinées. Comme on le sait, il s'agit de la première étude dans laquelle une combinaison d'inhibiteur de multikinase, le sorafénib et d'antidépresseur ISRS, l'escitalopram, a été administrée. Le sorafénib montre que son effet antiprolifératif est renforcé de manière synergique avec l'escitalopram. On pense que cette découverte est à la base des études évaluant l'efficacité de la co-administration de sorafénib et d'escitalopram dans le traitement du CHC.

## CONCLUSIONS

L'administration d'une association d'escitalopram et de sorafénib ont diminué la prolifération. Les cellules se contractent, se contractent et flottent dans le milieu en se

<sup>19</sup> Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet* 2018;391:1357-66.

<sup>20</sup> Smith, HR. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment. *Oncol Lett* 2015; 9: 1509-14.

<sup>21</sup> Caraci F, Crupi R, Drago F, Spina E. Metabolic drug interactions between antidepressants and anticancer drugs: focus on selective serotonin reuptake inhibitors and hypericum extract. *Curr Drug Metab* 2011;12: 570-7.

<sup>22</sup> Dikmen M, Cantürk Z, Oztürk Y. Escitalopram oxalate, a selective serotonin reuptake inhibitor, exhibits cytotoxic and apoptotic effects in glioma C6 cells. *Acta Neuropsychiatr* 2011; 23: 173-8.

<sup>23</sup> Kuwahara J, Yamada T, Egashira N, Ueda M, et al. Comparison of the Anti-tumor Effects of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors as Well as Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Biol Pharm Bull* 2015; 38:1410-4. doi: 10.1248/bpb.b15-00128.21)

<sup>24</sup> Chen VC, Hsieh YH, Chen LJ, Hsu TC, Tzang BS. Escitalopram oxalate induces apoptosis in U-87MG cells and autophagy in GBM8401 cells. *J Cell Mol Med* 2018; 22:1167-78. doi: 10.1111/jcmm.13372.

séparant de la surface à laquelle elles adhèrent. Ces caractéristiques morphologiques sont compatibles avec l'apoptose de mort cellulaire programmée.

#### **Déclaration de liens d'intérêts**

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêts à déclarer.

#### **Remerciements**

Nous remercions İrem Özbey et Professeur agrégé Gülbüz Sezgin pour vérifier l'orthographe et la grammaire; Hatice Mardin pour assistance technique. Le projet est soutenu par le conseil de recherche de l'Université de Maltepe.

## REFERENCES

1. **Aktaş G.** Antibiotic Combinations and Synergistic Interactions. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015; 44: 47-55.
2. **Bliss CI.** The toxicity of poisons applied jointly. *Ann App Biol* 1939; 26: 585–615
3. **Bruix J, Raoul JL, Sherman M, Mazzaferro V, et al.** Efficacy and safety of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: subanalyses of a phase III trial. *J Hepatol* 2012;57: 821-829.
4. **Caraci F, Crupi R, Drago F, Spina E.** Metabolic drug interactions between antidepressants and anticancer drugs: focus on selective serotonin reuptake inhibitors and hypericum extract. *Curr Drug Metab* 2011;12: 570-7.
5. **Chen VC, Hsieh YH, Chen LJ, Hsu TC, Tzang BS.** Escitalopram oxalate induces apoptosis in U-87MG cells and autophagy in GBM8401 cells. *J Cell Mol Med* 2018; 22:1167-78. doi: 10.1111/jcmm.13372.
6. **Chou TC.** Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 621-81.
7. **Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A et al.** Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet* 2018; 391:1357-66.
8. **Dikmen M, Cantürk Z, Oztürk Y.** Escitalopram oxalate, a selective serotonin reuptake inhibitor, exhibits cytotoxic and apoptotic effects in glioma C6 cells. *Acta Neuropsychiatr* 2011; 23: 173-8.
9. **Ianevski A, He L, Aittokallio T, Tang J.** SynergyFinder: a web application for analyzing drug combination dose-response matrix data. *Bioinformatics* 2017; 33:2413-15. doi:10.1093/bioinformatics/btx162.
10. **Jin G, Wong ST.** Toward better drug repositioning: prioritizing and integrating existing methods into efficient pipelines. *Drug Discov Today* 2014;19:637-44. doi:10.1016/j.drudis.2013.11.005. Epub 2013 Nov 14.
11. **Kirino E.** Escitalopram for the management of major depressive disorder: a review of its efficacy, safety, and patient acceptability. *Patient Prefer Adherence* 2012; 6: 853.
12. **Kuwahara J, Yamada T, Egashira N, Ueda M, et al.** Comparison of the Anti-tumor Effects of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors as Well as Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Biol Pharm Bull* 2015; 38:1410-4. doi: 10.1248/bpb.b15-00128.21)
13. **Llovet JM.** Updated treatment approach to hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2005; 40: 225-35.
14. **Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, et al.** Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma 2008; *N Engl J Med* 359: 378-90.
15. **Li YY, Jones SJ.** Drug repositioning for personalized medicine. *Genome Med* 2012; 4: 27.
16. **Rao N.** The clinical pharmacokinetics of escitalopram. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46: 281-90.
17. **Raza A, SoodGK.** Hepatocellular carcinoma review: current treatment, and evidence-based medicine. *World J Gastroenterol* 2014; 20: p. 4115-27.
18. **Sanchez C, Reines EH, Montgomery SA.** A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline: Are they all alike? *Int Clin Psychopharmacol.* 2014; 29:185-96. doi:10.1097/YIC.000000000000023.
19. **Smith, HR.** Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment. *Oncol Lett* 2015; 9: 1509-14.
20. **Villanueva A, Llovet JM.** Targeted therapies for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2011; 140:1410-26. doi: 10.1053/j.gastro.2011.03.006. Epub 2011 Mar 13.