



ARTÍCULO ORIGINAL

EFECTO ANTIDEPRESIVO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE AZAFRÁN EN RATONES ALBINOS SUIZOS MACHOS, ADULTOS UTILIZANDO EL TEST DE LA SUSPENSIÓN DE LA COLA

Paola Mercedes Ramírez Maciel, Fátima Sol Ramírez Pereira, César Dario Romero Bordón, Abel Osmar Pereira Gómez, Claudia Centurión-Wenninger

Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

RESUMEN

Introducción: La depresión afecta la vida afectiva, cognitiva, conductual y somática. *Crocus sativus*, conocido como azafrán, podría tener eficacia similar a la fluoxetina e imipramina en el tratamiento de la depresión. El objetivo fue evaluar los efectos antidepresivos del azafrán en ratones albinos suizos con la prueba de suspensión de la cola.

Métodos: Experimental, de grupos paralelo, triple ciego, con pre y pospruebas. Realizado en Asunción - Paraguay, en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción. De abril a octubre de 2017. Se aplicó el test de suspensión de la cola a 16 ratones asignados aleatoriamente a 4 grupos: a) Grupo Experimental 1 (extracto alcohólico de azafrán 40 mg/kg), b) Grupo Experimental 2 (extracto alcohólico de azafrán 80 mg/kg), c) Grupo Fluoxetina (10 mg/kg), d) Grupo Placebo. Se utilizó la prueba t de Student para comparación de medias, $p < 0,05$ como significativo.

Resultados: Las medias de latencia de inmovilidad fueron: a) Grupo Placebo: $1,4 \pm 0,4$ s, b) Grupo Fluoxetina: $1,1 \pm 0,07$ s, c) Grupo Experimental 1: $1,4 \pm 0,3$ s, d) Grupo Experimental 2: $1,7 \pm 0,7$ s.

Conclusión: La administración de extracto alcohólico de azafrán, mostro reducción del comportamiento depresivo en la prueba de "desesperanza aprendida" de la suspensión de la cola.

Autor de correspondencia:

Paola Mercedes Ramírez Maciel
paomerama@hotmail.com

Recibido: 27/07/2018

Aceptado: 22/10/2018

Palabras clave:

Depresión, *Crocus sativus*, Fluoxetina, Prueba de suspensión de la cola.

ANTIDEPRESSANT EFFECT OF THE ALCOHOLIC EXTRACT OF SAFFRON IN MALE SWISS ALBINO MICE, ADULTS USING THE TAIL SUSPENSION TEST.

ABSTRACT

Background: Depression affects affection, cognition, behavior and somatic life. *Crocus sativus* known as well as saffron could have a similar efficacy compared to fluoxetine and imipramine in the treatment of depression. The aim was to study the antidepressant effects of saffron in Swiss albino mice with the tail suspension test.

Methods: Experimental, parallel groups, triple blind, with previous and posterior tests. It was carried out in Asunción – Paraguay, in the Faculty of Medicine of the National University of Asunción. The study was held from April to October 2017. The tail suspension test was applied to 16 mice randomly assigned to 4 groups: a) Experimental Group no. 1 (saffron alcoholic extract with 40 mg/kg), b) Experimental Group no. 2 (saffron alcoholic extract with 80 mg/kg), c) Fluoxetine Group (10 mg/kg), d) Placebo Group. Student's t test was used for means comparison, $p < 0.05$ as significative.

Results: The means of immobility latency were: a) Placebo Group: 1.4 ± 0.4 s, b) Fluoxetine Group: 1.1 ± 0.07 s, c) Experimental Group no. 1: 1.4 ± 0.3 s, d) Experimental Group no. 2: 1.7 ± 0.7 s.

Conclusion: The administration of alcoholic extract of saffron, showed reduction of depressive behavior in the tail suspension test.

Key words:

Depression, *Crocus sativus*, Fluoxetine, Tail suspension test.

INTRODUCCIÓN

Las afecciones neurológicas y patologías mentales según datos de la OMS presentan una carga global de un 14% a nivel mundial, afectando a un número importante de personas en Latinoamérica y el Caribe (22%), las cuales tienen un impacto importante en todas las sociedades (1).

El factor más relevante en la fisiopatología de la depresión se relaciona con alteraciones en el tono sistema serotoninérgico y la neurotransmisión en el Sistema Nervioso Central, algo que es común en los trastornos afectivos (2).

Investigaciones han puesto de manifiesto las propiedades antidepressivas de *Crocus sativus* (conocido como "azafrán") e incluso lo comparan con reconocidos fármacos antidepressivos (3). Estas propiedades se encuentran en los estigmas y pétalos de la planta, que han sido utilizados ya desde la antigüedad en el tratamiento de diversas enfermedades (4). Aunque fuera de lo conocido, otras posibles propiedades no han sido demostradas ni están bien estudiadas hasta hoy día.

Aunque ya son conocidas sus propieda-

des antidepresivas, sigue siendo objeto de estudio en las diversas investigaciones. La acción antidepresiva de esta hierba es comparable a la fluoxetina y la imipramina, fármacos conocidos y utilizados ampliamente en psiquiatría para el tratamiento de la depresión (5,6).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos antidepresivos del azafrán en ratones albinos suizos con la prueba de la "desesperanza aprendida".

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de diseño experimental, de grupos en paralelo, triple ciego, con pre y pospruebas, muestreo probabilístico aleatorio simple. El estudio se llevó a cabo en el bioterio de la cátedra de Fisiopatología, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción. El marco temporal abarcó desde marzo a noviembre del año 2017.

La hipótesis alterna fue que la latencia de inmovilidad en el test de la suspensión de la cola será mayor en promedio en el grupo experimental que en el grupo control placebo. La hipótesis nula fue que la latencia de inmovilidad en el test de la suspensión de la cola será igual en el grupo experimental y en el grupo control placebo.

Se utilizaron ratones albinos suizos adultos provenientes de Instituto de Investigación en la Salud de la Universidad Nacional de Asunción, machos de peso de 20 a 25 gramos.

Para el cálculo muestral se utilizó la fórmula $n=1+2C(s/d)^2$. Donde C es un coeficiente determinado por el error α y el error β , se tomó un α de 0,05 y una β de 10%, con lo que da una C de 10,51. La s de un estudio previo y con una d esperada es de 7 segun-

dos con lo que resulta un tamaño mínimo para cada grupo de 3,68 que por redondeo determinamos 4 animales por grupo, la muestra estuvo constituida por 16 animales (7).

Los criterios de inclusión fueron: ratones albinos suizos sin patología de base, macho, adultos, de entre 20-25 gramos de peso, que no hayan sido utilizados previamente en ningún experimento. Los criterios de exclusión fueron: ratones previamente enfermos o con lesiones en la piel.

Las variables independientes fueron: 1) tratamiento con extracto alcohólico de azafrán (por 7 días, administrado por canulación orogástrica). Indicadores: 1.a) efecto con extracto alcohólico de azafrán a 1 dosis de 40 mg/kg de peso del ratón al Grupo Experimental 1, 1.b) tratamiento con extracto alcohólico de azafrán a 1 dosis de 80 mg/Kg de peso del ratón al Grupo Experimental 2. 2) tratamiento con fluoxetina a 1 dosis de 10 mg/kg (por 7 días, administrado por canulación orogástrica).

Las variables dependientes fueron el patrón conductual "desesperanza aprendida". La desesperanza aprendida es un estado de pérdida de la motivación en una situación clínica de indefensión y pasividad frente al cambio, se mata la fe, se aniquila la autoestima y por lo tanto se delega la acción. Los indicadores fueron: a) latencia de inmovilidad (tiempo en segundos desde el inicio de la prueba de suspensión de la cola hasta que el animal queda inmóvil; inmovilidad se considera que el animal no mueva las patas y cabeza); b) tiempo de inmovilidad (tiempo en segundos en que el animal se permanece inmóvil); c) tiempo de lucha vigorosa (tiempo en segundos que transcurre en que el animal permanece en movimiento a merced de su sujeción desde la cola (8).

El test de suspensión de la cola fue el mé-

todo de elección para medir el efecto anti-depresivo en donde la inmovilidad se induce suspendiendo al animal por la cola. El ratón inicialmente tratará de escapar de la suspensión de la cola mediante con movimientos vigorosos para posteriormente quedar inmóvil. Debe suspenderse a los animales por la cola pasando un gancho de suspensión a través de una cinta adhesiva lo más cerca posible a la cola (1-2 mm) para asegurar que el animal se cuelgue en una línea recta (para evitar lesiones). La observación de los animales se realiza en forma continua durante 6 minutos. La duración de la inmovilidad será observada y registrada. Cuanto menor sea el tiempo de inmovilidad en los ratones estudiados, mayor será el efecto antidepressivo (9–11).

Todo el proceso fue grabado con un equipo de filmación *Sony Handycam DCR-SX45*. Se procedió posteriormente al análisis de los videos de la prueba con el programa *Ethowatcher*® (13). Todo el proceso fue realizado en una sala aislada sin contacto con las otras ratas.

La duración de la fase empírica fue de 7 días y se introdujeron al azar 16 animales (4 animales para cada grupo del estudio), los investigadores (ciegos de la asignación de los animales a los grupos de estudio). Fueron asignados aleatoriamente a los 4 grupos de tratamiento y, durante los 15 días siguientes a su llegada al bioterio, pasaron por las siguientes etapas y mediciones:

Periodo de adaptación: Los primeros 7 días fue el periodo de aclimatación, disponibilidad de alimento y agua. Seguido del periodo de experimentación entre los días 8 y 14. Se administró por sonda orogástrica las soluciones de estudio, además de disponibilidad de alimento y agua durante esos días. Y finalmente, el día 15 llevó a cabo la prueba de suspensión de la cola a los ratones por 6 minutos a cada uno.

Los grupos de estudio fueron los siguientes:

- Grupo Control Técnico (placebo): recibió 0,25 mL de agua mineral por una sonda orogástrica (n=4 ratones machos).
- Grupo Control Droga: recibió fluoxetina a dosis de 10 mg/kg de peso corporal, un volumen de 0,25 mL por una sonda orogástrica, diariamente (n=4 ratones). Preparación: 10 mg de fluoxetina, macerada en mortero, en 10 mL de agua tibia para dilución óptima.
- Grupo Experimental 1: tratamiento crónico con extracto alcohólico de azafrán en dosis de 40 mg/kg de peso corporal por sonda orogástrica, diariamente (n=4 ratones). Preparación: Se diluyó 1000 mg de extracto alcohólico de azafrán en 250 mL de agua tibia. De esta solución se administró 0,25 mL a los animales.
- Grupo Experimental 2: tratamiento crónico con extracto alcohólico de azafrán en dosis de 80 mg/kg de peso corporal por sonda orogástrica, diariamente (n=4 ratones). Preparación: Se diluyó 2000 mg de extracto alcohólico de azafrán en 250 mL de agua tibia. De esta solución se administró 0,25 mL a los animales.

La referencia de las dosis fue tomada de un estudio previo (12). Los preparados de las soluciones se hacían en el día y fue desechado el sobrante después de cada administración. Así se evitó que el almacenamiento alterara la concentración y calidad de este.

Análisis estadístico: Los datos numéricos (mediciones en segundos de los videos de los experimentos) se obtuvieron por medio del programa *Ethowatcher*® de licencia libre, y para el procesamiento de datos se utilizó *Microsoft Excel 2010*. Las variables cuantitativas fueron presentadas como promedio y desviación estándar, y a fin de establecer comparaciones entre las medias de los gru-

pos, se utilizó la prueba t de Student para muestras independientes y para evaluar la igualdad de las varianzas, se utilizó la prueba de Levene. Para medir la fuerza de asociación entre variables se utilizó Correlación de Spearman. Se consideró $p < 0,05$ como significativa. Las variables cualitativas fueron: frecuencia y se utilizó la prueba de Chi cuadrado para comparación entre grupos.

Enmascaramiento: Durante el procesamiento de datos 2 investigadores enmascararon por medio de códigos los 16 videos de tal manera, así los investigadores que analizaron desconocieron qué animal o de qué grupo pertenecía cada animal.

La principal limitación que tuvo el trabajo fue la capacidad limitada a 4 jaulas del bio-terio sectorial. Otras limitaciones presentadas fue el prolongado tiempo de espera en la entrega del preparado alcohólico de azafrán.

Consideraciones éticas: en la realización del trabajo se tuvo en cuenta el principio de las 3R (reemplazar, reducir, refinar), el cual se cumplió con el máximo rigor posible para garantizar la validez del estudio. Los animales de experimentación incluidos en el estudio recibieron los cuidados adecuados. Se evitó el dolor innecesario, sufrimiento, estrés o lesiones prolongadas y se evitó la duplicación o repetición innecesaria de experimentos.

RESULTADOS

La prueba aplicada fue la "Prueba de la Suspensión de la cola", se estudiaron la latencia de inmovilidad, los tiempos de inmovilidad y de lucha vigorosa.

Grupo Control: 1) tiempo de inmovilidad: $212,1 \pm 74,7$ s, 2) tiempo de lucha vigorosa: $146,9 \pm 74,4$ s, 3) frecuencia de inmovilidad:

$15 \pm 2,9$ veces, 4) frecuencia de lucha vigorosa: $14,2 \pm 3,09$ veces, 5) latencia de inmovilidad: $1,4 \pm 0,4$ segundos.

Grupo Fluoxetina: 1) tiempo de inmovilidad: $27,6 \pm 17,1$ s, 2) tiempo de lucha vigorosa: $334,5 \pm 17,1$ s, 3) frecuencia de inmovilidad: $9,7 \pm 5$ veces, 4) frecuencia de lucha vigorosa: $9,25 \pm 4,5$ veces, 5) latencia de inmovilidad: $1,1 \pm 0,07$ s.

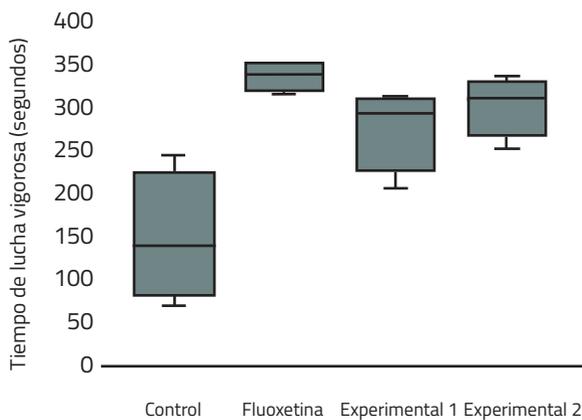
Grupo Experimental 1 (40 mg/kg): 1) promedio de inmovilidad: $85,3 \pm 47,8$ s, 2) promedio de lucha vigorosa fue de $274,1 \pm 47,9$ s. 3) promedio de frecuencia de inmovilidad: $12,5 \pm 3,4$ veces, 4) promedio de frecuencia de lucha vigorosa: $12,2 \pm 3,3$ veces, 5) promedio de latencia de inmovilidad: $1,4 \pm 0,3$ s.

Grupo Experimental 2 (80 mg/kg): 1) tiempo de inmovilidad: $61,8 \pm 33,8$ s, 2) tiempo de lucha vigorosa: $00,3 \pm 35$ s, 3) promedio de frecuencia de inmovilidad fue de $9 \pm 2,4$ veces, 4) promedio de frecuencia de lucha vigorosa fue de $8,5 \pm 3$ veces. 5) promedio de latencia de inmovilidad: $1,7 \pm 0,7$ s.

El Grupo Fluoxetina ha presentado 86,9% menos de inmovilidad con respecto al Grupo Control. Asimismo, el Grupo Experimental 1 ha presentado 59,8% menos de inmovilidad con respecto al Grupo Control y 27,1% más de inmovilidad con respecto al Grupo Fluoxetina. El Grupo Experimental 2 ha presentado 70,8% menos de inmovilidad con respecto al Grupo Control, 16,1% más de inmovilidad con respecto al Grupo Fluoxetina y 11% menos de inmovilidad con respecto al Grupo Experimental 1. Se puede comparar los tiempos de lucha vigorosa y los promedios de tiempo de inmovilidad de los tres grupos (Figuras 1 y 2).

Comparando la media de lucha vigorosa del Grupo Control con la media de lucha vigorosa del grupo Experimental 1 (estadístico Levene= 0,367) con la prueba t se obtuvo

Figura 1. Tiempo de "Lucha vigorosa" de los 4 grupos de ratones albinos suizos (n=16)



una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,028$).

Comparando la media de inmovilidad del Grupo Control y del Grupo Experimental 1 (estadístico Levene= 0,355) con la prueba t se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,029$).

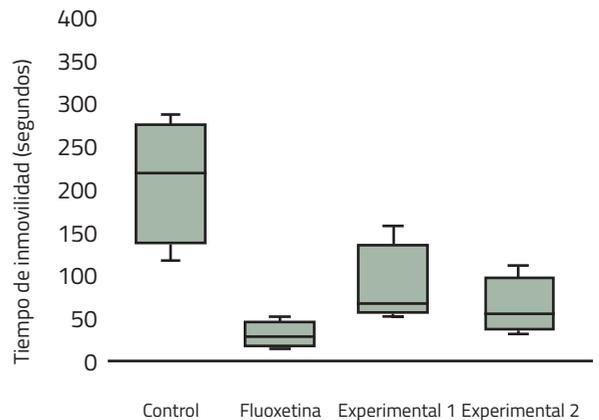
Comparando la media de lucha vigorosa del Grupo Control y del Grupo Experimental 2 (estadístico Levene= 0,171) con la prueba t se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,010$).

Comparando la media de inmovilidad del Grupo Control y la del Grupo Experimental 2 (estadístico Levene= 0,154) con la prueba t se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,011$).

Comparando la media de lucha vigorosa del Grupo Fluoxetina y del Grupo Experimental 1 (estadístico Levene= 0,166) con la prueba t no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,55$).

Comparando la media de inmovilidad del Grupo Fluoxetina y la del Grupo Experimental 1 (estadístico Levene= 0,164) con la prueba t tampoco se obtuvo una diferencia

Figura 2. Tiempo de "Inmovilidad" de los 4 grupos de ratones albinos suizos (n=16)



estadísticamente significativa ($p=0,64$).

Comparando la media de lucha vigorosa del Grupo Fluoxetina y del Grupo Experimental 2 (estadístico Levene= 0,392) con la prueba t no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,129$).

Comparando la media de inmovilidad del Grupo Fluoxetina y del Grupo Experimental 2 (estadístico Levene= 0,391) con la prueba t no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,121$).

Se midió la fuerza de asociación entre la administración de las dosis de nuestro extracto alcohólico a los grupos experimentales y el grupo placebo. Se encontró una correlación fuerte ($\rho= -0,769$) tiempo de inmovilidad disminuye con respecto a la administración del tratamiento experimental y también al aumento de dosis del extracto alcohólico de azafrán.

DISCUSIÓN

Los ratones tratados con extracto alcohólico de azafrán presentan menor tiempo de inmovilidad con respecto al grupo control. Con respecto a los promedios de tiempos de

inmovilidad entre los grupos experimentales y el grupo fluoxetina se esperaba que las diferencias sean las mínimas posibles, pero se obtuvo una diferencia de 27,1 y 16,1%.

Un estudio realizado en ratas Wistar en Irán concluyó que el extracto de azafrán tiene efectos antidepresivos con dosis de 40 y 160 mg/kg que disminuyeron el tiempo de inmovilidad e incluso comparable a dosis de Imipramina 10 mg/kg y el mecanismo de la depresión estaría parcialmente mediado por el aumento de expresión del Factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC), VGF, CRED y P-CREB en el hipocampo de las ratas (13). Otro estudio señala un efecto dosis dependiente donde 150, 300 y 600 mg/kg, dosis crecientes, en forma significativa ejercen efectos antidepresivos en ratas comprobados con el test de nado forzado y el test de suspensión de cola en comparación con el grupo control (14).

Un estudio comparativo entre la fluoxetina y el extracto de azafrán se vio que *C. sativus* disminuyó significativamente los síntomas depresivos en pacientes con depresión leve y moderada, así como también menor cantidad de efectos adversos. Se encontraron ensayos clínicos realizados en humanos en Australia encontraron que el extracto de azafrán mejora los síntomas de depresión, ansiedad y fobia social en adolescentes, comparando con el grupo placebo (15). En combinación con curcumina, que tiene también efectos antidepresivos y ansiolíticos, se demostró que también que disminuye los síntomas de una depresión mayor en adultos, aunque las dosis precisas aún no están definidas (16). En otro estudio realizado en mujeres embarazadas con síntomas de depresión posparto leves a moderados remitieron sus síntomas en un 96 % en comparación al grupo placebo que lo hizo en un 43 % (17).

Al revisar los resultados de la investiga-

ción acerca del Cedrón Paraguay (*Aloysia Citriodora*) (8), realizado en el año 2015 se notó que han obtenido evidencia de que el Cedrón Paraguay también posee efectos antidepresivos, además de ser hipotensor y posiblemente con un importante efecto sedante. Esto lo han demostrado con el Test de Suspensión de la Cola. Comparando nuestros resultados con los suyos, el azafrán demostró tener una mayor reducción en porcentaje de los promedios de tiempo de inmovilidad con respecto a los grupos controles. El Cedrón Paraguay para las dosis utilizadas en ese trabajo en su Grupo experimental 2 redujo en un 38,5% el tiempo de inmovilidad con respecto al grupo control. El Grupo Experimental 2 azafrán en este estudio redujo un 70,8% el tiempo de inmovilidad con respecto al grupo control.

Se demuestra entonces que el extracto alcohólico de azafrán posee propiedades que pueden aumentar el tiempo de lucha y disminuir el tiempo de inmovilidad; entonces, basándonos en los resultados obtenidos y mencionados anteriormente, podemos decir que el azafrán puede tener efectos antidepresivos.

Es necesario seguir estudiando sobre el extracto de azafrán, para comprobar si posee otros efectos sobre el organismo (ej.: sobre la presión arterial, la ansiedad, sobre el metabolismo fuera de los parámetros neurológicos), así como también determinar las dosis exactas a ser administradas, individualizar sus componentes para una mejor comprensión de su utilidad y determinar si existe toxicidad y en qué condiciones.

Agradecimientos:

Agradecemos especialmente a la Dra. Claudia Centurión Wenniger por habernos guiado y brindarnos todo el apoyo necesario en el proceso de realización del presente trabajo.

Conflictos de interés:

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Financiamiento:

Autofinanciado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS-Paraguay. Día Mundial de la Salud Mental: la depresión es el trastorno mental más frecuente. 10 de octubre de 2010; Disponible en: https://www.paho.org/par/index.php?option=com_content&view=article&id=784:-dia-mundial-salud-mental-depresion-trastorno-mental-mas-frecuente&Itemid=214
2. Díaz VBA, González GC. Actualidades en la neurobiología de la depresión. *Rev Latinoam Psiquiatr* [Internet]. 2012;11(3):106-15. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40547>
3. Arrese-Igor García A. Efectividad de los remedios naturales en la sintomatología del paciente con Trastorno Depresivo Mayor [Internet]. Universidad del País Vasco; 2015. Disponible en: <https://addi.ehu.es/handle/10810/15803>
4. Carretero Accame ME. Actualizaciones sobre la actividad del azafrán [Internet]. 2009. Disponible en: <https://botplusweb.portalafarma.com/Documentos/2009/7/14/39525.pdf>
5. UNAM. Fluoxetina [Internet]. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general. 2007. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Fluoxetina.htm
6. Eutimia.com. Imipramina [Internet]. Psicofármacos - Antidepresivos. 2018. Disponible en: <http://www.eutimia.com/psicofarmacos/antidepresivos/imipramina.htm>
7. Panlab. Test de suspensión por la cola [Internet]. Harvard Apparatus. Disponible en: <https://www.panlab.com/es/tests-soluciones/prueba-de-suspension-por-la-cola>
8. Barrios I, Miltos V, Piris A, Piris G, Centurión C. Efecto Antidepresivo del Extracto Hidroalcohólico de *Aloysia citriodora* (Cedrón Paraguay) Usando Test de Suspensión de la Cola en Ratones Albinos Suizos. *Rev Sci* [Internet]. 2016;14(1):9-12. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rsscsm/v14n1/v14n1_a03.pdf
9. Lapiz-Bluhm MDS, Bondi CO, Doyen J, Rodriguez GA, Bédard-Arana T, Morilak DA. Behavioural assays to model cognitive and affective dimensions of depression and anxiety in rats. *J Neuroendocrinol* [Internet]. 2008/07/30. octubre de 2008;20(10):1115-37. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18673411>
10. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(4-5):571-625.
11. Laines Lozano GI. Estudio del efecto Antidepresivo del extracto Hidroalcohólico de hojas de *Hypericum Laricifolium* (Chinchango) en ratones Albinos [Internet]. 2010. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2600>
12. Akhondzadeh Basti A, Moshiri E, Noorbala A-A, Jamshidi A-H, Abbasi SH, Akhondzadeh S. Comparison of petal of *Crocus sativus* L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: a pilot double-blind randomized trial. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. marzo de 2007;31(2):439-42.
13. Ghasemi T, Abnous K, Vahdati F, Mehri S, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Antidepressant Effect of *Crocus sativus* Aqueous Extract and its Effect on CREB, BDNF, and VGF Transcript and Protein Levels in Rat Hippocampus. *Drug Res (Stuttg)*. julio de 2015;65(7):337-43.
14. Wang Y, Han T, Zhu Y, Zheng C-J, Ming Q-L, Rahman K, et al. Antidepressant properties of bioactive fractions from the extract of *Crocus sativus* L. *J Nat Med* [Internet]. 2009;64(1):24. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11418-009-0360-6>
15. Lopresti AL, Drummond PD, Inarejos-Garcia AM, Prodanov M. affron((R)), a standardised extract from saffron (*Crocus sativus* L.) for the treatment of youth anxiety and depressive symptoms: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord*. mayo de 2018;232:349-57.
16. Lopresti AL, Drummond PD. Efficacy of curcumin, and a saffron/curcumin combination for the treatment of major depression: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord*. enero de 2017;207:188-96.
17. Tabeshpour J, Sobhani F, Sadjadi SA, Hosseinzadeh H, Mohajeri SA, Rajabi O, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of saffron stigma (*Crocus sativus* L.) in mothers suffering from mild-to-moderate postpartum depression. *Phytomedicine*. diciembre de 2017;36:145-52.