

Uzun Süreli Kakao Flavanollerinin Alımının Bilişsel İşlevlere ve Duygudurumuna Etkileri ve Bu Etkilerin Altındaki Fizyolojik Mekanizmalar: Bir Derleme Çalışması

Oğuz Karataş¹
Uludağ Üniversitesi

Aytaç Karabay²
Groningen Üniversitesi

Tevfik Alıcı³
Uludağ Üniversitesi

Özet

Son yıllarda flavanol bakımından zengin kakao ve kakao ürünlerinin sinir sistemi dahil olmak üzere sağlığa faydaları net bir şekilde gösterilmiştir. Bu inceleme yazısının amacı uzun süreli kakao flavanollerinin alımının yönetici işlevler, dikkat ve bellek gibi çeşitli bilişsel işlevler ve duygudurum üzerindeki etkilerini inceleyen seçkisiz kontrollü çalışmalarını özetlemek ve bu etkilerin altında yatan fizyolojik mekanizmaları tartışmaktır. İnsanlarla ve deney hayvanlarıyla yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, kakao flavanollerinin bilişsel işlevler ve duygudurumuna olan olumlu katkısının kan damarlarını genişletme, nörotransmitter görevi görme ve insülin duyarlılığını artırma gibi çeşitli işlevlere sahip nitrik oksit biyoyararlanımını artırarak gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca yüksek antioksidan kapasitesine ve nöral koruma özelliklerine sahip kakao flavanollerinin reseptörler, enzimler ve sinyal yolları üzerindeki doğrudan etkileri aracılığıyla, bilişsel olarak sağlıklı bireylerde bilişsel işlevleri destekleyeceğine ve yaşlanmayla birlikte kaçınılmaz olarak ortaya çıkan bilişsel gerilemeyi önleyeceğine dair güçlü kanıtlar sunulmuştur. Kakao flavanollerinin çalışmalarında gözlemlenen farklı bulgulara rağmen, doza ve uygulama süresine bağlı olarak uzun süreli kakao flavanollerinin alımı duygudurumunu düzenlemekte; dikkat, işleme hızı ve çalışma belleği gibi çeşitli bilişsel işlevleri desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: Kakao, kakao flavanollerini, nitrik oksit, bilişsel işlevler, duygudurum

Abstract

In recent years, the health benefits of flavanol-rich cocoa and cocoa-derived products, including on the nervous system, have been clearly demonstrated. The purpose of this review is to summarize randomized controlled trials examining the effects of long-term cocoa flavanols intake on mood and various cognitive functions, such as executive functions, attention, and memory, as well as to discuss mechanisms underlying these effects. *In vivo* and *in vitro* studies conducted with humans and experimental animals show that cocoa flavanols improve cognitive functions and mood by increasing the bioavailability of nitric oxide, which has a variety of functions, including dilating blood vessels, acting as a neurotransmitter, and improving insulin sensitivity. Furthermore, strong evidence has been presented that cocoa flavanols, which have a high antioxidant activity and neuroprotective properties, could support cognitive functions in cognitively intact individuals and prevent cognitive decline that inevitably occurs with aging through direct actions on receptors, enzymes, and signaling pathways. Despite the mixed findings observed in cocoa flavanols studies, long-term intake of cocoa flavanols, depending on the dose and administration duration, regulate mood and support various cognitive functions, such as attention, processing speed, and working memory.

Keywords: Cocoa, cocoa flavanols, nitric oxide, cognitive functions, mood

Yazar notu: Makalenin yazım ve noktalama kurallarına uyumu özelinde yaptıkları katkılardan dolayı Asel Simla Karabay ve Selçuk İlkay Çevik'e teşekkürlerimi sunarım.

Yazışma Adresi: ¹Arş. Gör. Oğuz Karataş, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Köyceğiz Yerleşkesi, Sosyal ve Beşeri Bilimler Fakültesi, Psikoloji Bölümü, Meram / Konya, oguzkrts@gmail.com, ORC-ID: 0000-0003-0875-343X

²Dr. Aytaç Karabay, Groningen Üniversitesi, Groningen / Hollanda, a.karabay@rug.nl, ORC-ID: 0000-0003-3592-1531

³Prof. Dr. Tevfik Alıcı, Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Sosyal Bölümler Binası, Psikoloji Bölümü, Görükle/ Bursa, alici@uludag.edu.tr, ORC-ID: 0000-0002-6036-125X

Gönderim Tarihi: 09.06.2021

Kabul Tarihi: 03.12.2021

Hafif düzeyde birçok rahatsızlığa iyi geldiği inancıyla Aztekler tarafından tıbbi amaçlarla kullanılan ve İnkaların *Tanrıların içeceği* olarak nitelendirildiği kakao, bilimsel ismini Yunancada tanrı anlamına gelen *theo* ve içecek anlamına gelen *broma* sözcüklerinden almıştır (Corti vd., 2009; Massee vd., 2015). *Theobroma cacao* ağacından elde edilen kakao çekirdeği fermentasyon, kurutma, öğütme ve kavurma gibi işlemlerden geçirilerek kakao haline getirilir ve çikolatanın temel hammaddesini oluşturur (Zugravu ve Otelea, 2019). Kakaodan elde edilen ürünler başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada oldukça popüler bir besin maddesi haline gelmiştir (Latif, 2013). Özellikle son 20 yılda flavanol içeren kakaonun sağlığa potansiyel faydaları sebebiyle psikoloji, sinirbilim, tıp, beslenme ve diyetetik gibi pek çok disiplinden araştırmacılar bu maddenin etkilerini incelemiştir. Örneğin kakao flavanolleri (KF) alımının trombosit kümelenmesini (platalet aggregation), insülin direncini ve kan basıncını azalttığı gösterilmiştir (Corti vd., 2009). Ayrıca hemodinamiği (kan dolaşım devinimliği) etkileyerek merkezi ve çevresel kan akımını¹ arttırdığına yönelik kanıtlar ortaya çıkmıştır (Field vd., 2011). KF alımı sonrası gerçekleşen fizyolojik değişimlerin hem bilişsel işlevleri hem de duygudurumunu destekleyeceği öngörülerek farklı yaş gruplarındaki bireylerde ve klinik popülasyonda çalışmalar yürütülmüştür. Bu yazıda uzun süreli KF alımının bilişsel işlevler ve duygudurumuna olan etkilerinin incelendiği seçkisiz kontrollü çalışmalar ve bu etkilerin altında yatan fizyolojik mekanizmalar ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

Kakaonun Bileşenleri ve Kakao Flavanolleri

Besin değerleri incelenen kakaonun önemli biyoaktif bileşikler ihtiva ettiği gösterilmiştir. İnsanın yaşamını sürdürülebilmesi için gerekli olan makro besinleri (protein, karbonhidrat ve yağ) ve mikro besinleri (vitaminler ve mineraller) içermesi nedeniyle, kakao komple besin (complete food) olarak değerlendirilir (Latif, 2013). Oleik, palmitik ve stearik asit formunda bulunan yağlar kakao çekirdeğinin %50'den fazlasını; nişasta ve şeker ise %20-25'ini oluşturur. Kakao magnezyum, bakır, potasyum ve demir gibi mineraller açısından da zengin bir besin kaynağıdır (Magrone vd., 2017). Merkezi sinir sistemi uyarıcıları ve düz kas gevşetici özellikleri olan metilksantinler [teobromin (%1.0-2.5) ve

kafein (%0.06-0.4)] ve protein kakaonun azotlu organik bileşiklerindedir. Kakao serotonin, triptofan, tirozin ve feniletilamin gibi biyojenik amin (monoamin) yapıdaki bileşikleri içermektedir. Ayrıca kanabinoid reseptörlerine bağlanan anandamid nörotransmitteri de kakao içeriğinde düşük miktarda (0.5µg/g) bulunur (Nehlig, 2013).

Kakao dahil olmak üzere birçok besin kaynağında bulunan flavonoidler ise polifenol (fenolik bileşikler) antioksidanlara bağlı doğal bileşikler alt sınıfı olup flavanol (flavan-3-ol), flavonol, flavanon, flavon, izoflavon ve antosiyanidin gibi çeşitli alt kategorileri içermektedir (Gu vd., 2004). Flavanol üzüm, kırmızı şarap, elma, kakao, siyah ve yeşil çay gibi besin maddelerinde yüksek miktarda bulunur. Fakat hem (-)-epikateşin ve (+)-kateşin gibi monomer² yapıdaki flavanoller hem de prosiyanidin³ gibi oligomer⁴/polimer⁵ yapıdaki flavanoller içeren kakaoda toplam flavanol yoğunluğu diğer besin maddeleri ile karşılaştırıldığında oldukça fazladır (Lazarus vd., 1999). Kakao siyah çaydan 16-17, yeşil çaydan 12, kırmızı şaraptan ise 3-4 kat daha fazla epikateşin içerir (Lee vd., 2003). Bunun yanı sıra *in vitro* analizlerine göre prosiyanidinin, monomer yapıdaki flavanollerle karşılaştırıldığında çeşitli antioksidan ve bağışıklığı düzenleyici işlevleri bulunmaktadır (Lazarus vd., 1999). Antioksidanlar serbest radikallerin⁶ neden olduğu oksidatif stresin yıkıcı etkilerine karşı savunma rolü üstlenir (Diplock, 1998). İnsan vücudunun antioksidan dengesinin sağlanmasında beslenme oldukça önemli bir yere sahiptir. Lee ve diğerleri (2003) kakaonun kırmızı şarap, siyah çay ve yeşil çaydan daha yüksek antioksidan aktivitesi sağladığını tespit etmiştir. Fakat fermentasyon, alkalizasyon ve kavurma gibi biyolojik işlemler kakao içindeki flavanol miktarını ve sağladığı antioksidan kapasitesini etkilemektedir (Hurst vd., 2011). Örneğin Hollanda usulü kakao (Dutch process cocoa), naturel kakaonun asidik yapısı ve keskin tadını azaltmak için alkalize edilmesiyle elde edilir. Lezzeti artırma maksatlı yapılan bu işlem flavanol miktarını ciddi oranda azaltmaktadır. Kakaonun alkalize edilmesiyle epikateşin %98'e kadar, kateşin ise %80'e kadar kaybolur (Payne vd., 2010). Piyasada bulunan kakao ürünlerinin çoğu bu işleme tabi tutulmaktadır (Heiss vd., 2003). Dolayısıyla marketlerden temin edilen kakao ürünleri genellikle düşük miktarda flavanol ve antioksidan kapasitesi içermektedir. So-

1 Kalpten pompalanan kanın göğüs ve karın bölgesinde yerleşmiş olan aort damarındaki dolaşımı merkezi kan akımını, aorttan çıkan kanın beyin de dahil olmak üzere diğer organlara ve uzuvlara doğru akımı çevresel kan akımını ifade eder.

2 Yunancada tek parça anlamına gelen monomer, kompleks yapıdaki organik bileşiklerin yapı taşı oluşturur. Örneğin monomer yapıda olan glikoz molekülleri bir araya gelerek hayvan hücrelerinde polimer yapıdaki glikojene dönüşür.

3 Kateşin ve epikateşin moleküllerinden oluşan oligomer/polimer yapıdaki flavonoidlerdir.

4 Birkaç monomerin birbirine kimyasal olarak bağlanmasıyla oluşan kompleks yapıdaki moleküllerdir (örn. dimer, trimer, tetramer vs.).

5 Çok sayıda monomerin bir araya gelerek oluşturduğu makro yapıdaki moleküllerdir.

6 Atomik orbitallerinde çiftlenmemiş elektron bulundurması nedeniyle DNA, protein ve lipid gibi hücre yapılarını tahrip ederek hücrelerin işlevlerini bozan reaktif yapıda bir oksijen formudur.

nuç olarak, içerdiği yüksek flavanol miktarı ve sağladığı antioksidan kapasitesi nedeniyle, flavanol çalışmalarında alkalize edilmemiş kakao ve çikolata ürünleri flavanol içeren diğer ürünlere göre daha çok tercih edilmektedir.

Yöntem

Kakaonun diğer besin maddelerinden daha fazla flavanol içermesi nedeniyle (Lee vd., 2003) bu makalede incelenen çalışmalar yalnızca KF kullanılan çalışmalar ile sınırlandırılmıştır. Literatürde KF alımının bilişsel işlevler ve/veya duygudurum üzerindeki etkileri akut (≤ 24 saat), subakut (2 ila 28 gün), subkronik (4 ila 12 hafta) ve kronik (≥ 13 hafta) düzeyde incelenmiştir. Mevcut çalışmanın uzun süreli KF alımının etkilerine odaklanması sebebiyle, literatür taraması sonrası listelenen yayınlar arasından subkronik ve kronik çalışmalar incelemeye dahil edilmiştir (Tablo 1). Ayrıca tam anlamıyla uzun süreli kullanım olarak değerlendirilmese de çalışmaların sınırlı sayıda olmasından dolayı subakut çalışmalara da yer verilmiştir (Tablo 1). KF'nin akut etkilerinin dışlandırdığı bu çalışmalarda, davranışsal ve fizyolojik ölçümler son doz alımından en az bir gün sonra uygulanmıştır. Akut çalışmalar kapsam dışı bırakıldıktan sonra yalnızca seçkisiz kontrollü çalışmalar (randomized controlled trials) incelemeye dahil edilmiştir. Derlemeye dahil edilen çalışmalar aksi belirtilmediği takdirde seçkisiz, çift körlemesine ve paralel desen çalışmadır. İncelenen çalışmalarda kullanılan ölçüm araçları ve araştırma soruları göz önünde bulundurularak, KF alımının etkilerine yönelik bulgular fizyolojik, bilişsel ve duygudurum olmak üzere üç şekilde sınıflandırılmıştır (Şekil 1).

Kakao Flavanolunun Fizyolojik Etkileri

Epikateşin formunda bulunan KF'nin, insan sindirim sistemi tarafından emilimi kolaylıkla gerçekleşir ve kan plazmasındaki yoğunluğu bunu takip eden 2-3 saatin sonunda en üst seviyeye ulaşır (Nehlig, 2013). Antioksidanların merkezi sinir sistemi üzerinde herhangi bir etki gösterebilmesi için seçici geçirgen yapıda olan kan-beyin bariyerini geçerek beyne nüfuz etmesi gerekir. Deneysel hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada epikateşin ve kateşinin kan-beyin bariyerini geçebildiği gösterilmiştir (van Praag vd., 2007). Başka bir çalışmada ise flavonoidlerin kan-beyin bariyerini geçerek hipokampus, serebellum ve striatum gibi yaşlanmanın olumsuz etkilerine karşı daha savunmasız beyin bölgelerinde biriktiği tespit edilmiştir (Socci vd., 2017). Örneğin yeşil çayda bulunan epigallocateşin gallat adlı flavanolun, oksidatif stresin *substantia nigra* bölgesinde neden olduğu nöron

kayıpları sonucu ortaya çıkan Parkinson hastalığına karşı koruma sağlayabileceği gösterilmiştir (Magrone vd., 2017; Vignes vd., 2006; Xu vd., 2017). Benzer bir mekanizmayla KF'nin beyne doğrudan etkisinin olduğu ve nöral koruma sağlayarak bilişsel işlevlere katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür (Karabay vd., 2018).

Bununla birlikte, KF'nin enzimler, reseptörler ve sinyal yollarını doğrudan etkilediğine yönelik ampirik kanıtlar mevcuttur (Hanrahan vd., 2011). Örneğin, flavonoidlerin bellek ile ilgili beyin yapılarında beyin kaynaklı nörotrofik faktör⁷ (BDNF) adlı proteinin gen ekspresyonunu⁸ artırdığı gösterilmiştir (Socci vd., 2017). Benzer şekilde, dört hafta boyunca düzenli KF alımı sonrası kan dolaşımında BDNF seviyesinin yükseldiği bulunmuştur (Neshatdoust vd., 2016). BDNF inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmalarda deney hayvanlarının bellek ve öğrenme işlevlerinin bozulması, Alzheimer hastalarının hipokampusunda ve Parkinson hastalarının *substantia nigra* bölgesinde BDNF seviyesinin düşük olması bahsedilen proteinin bilişsel işlevlerdeki rolüne işaret etmektedir (Bathina ve Das, 2015; Binder ve Scharfman, 2004). Ayrıca, düşük BDNF seviyesinin depresyon ve anksiyete ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Sleiman vd., 2016). Bu sonuçlar bir arada ele alındığında KF tüketiminin BDNF seviyesini artırarak bilişsel işlevler ve duygudurum üzerinde olumlu etkileri olacağı öngörülebilir.

KF'nin beyin ve bilişsel işlevlere doğrudan etkilerinin yanı sıra dolaylı etkileri de söz konusudur. Epidemiyolojik bir çalışmaya göre, Panama'da yaşayan Kuna yerlilerinin arteriel hipertansiyon gibi kalp damar rahatsızlıklarına daha az yakalandığı ve bu yerlilerin günlük ortalama 900 mg KF'ye tekabül eden kakao ürünleri tükettiği öğrenilmiştir. Flavanol içerikli besinleri daha az tüketen bazı Kuna yerlilerindeyse kalp damar rahatsızlıklarına daha sık rastlanırsa bu etkinin genetik faktörlerden ziyade beslenme biçiminden kaynaklandığını göstermektedir (Corti vd., 2009). Damar sağlığı ile bilişsel işlevler arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Çeşitli bilişsel bozuklukların eşlik ettiği Alzheimer hastalığı, vasküler demans ve hafif bilişsel bozukluğun fizyopatolojisinde kalp damar rahatsızlıklarının rol oynadığı kanıtlanmıştır (Grassi vd., 2016). Çünkü beynin işlevlerini optimum düzeyde yerine getirebilmesi için nöronlara oksijen ve glikoz takviyesinin yapıldığı serebral kan akımının belirli bir seviyede olması gerekir. KF takviyesi sonrasında kan akımı aracılığıyla damar genişlemesi (flow-mediated dilation) (Fisher vd., 2003) ve serebral kan akımında artış gözlenmesi (Francis vd., 2006) göz önüne alındığında KF'nin bilişsel işlevleri dolaylı olarak etkilediği düşünülmektedir.

7 Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (brain-derived neurotrophic factor; BDNF) sinir sisteminde nöron ve sinapsların yapısını ve işlevini destekleyen, akson ve dentritik dallanmaları düzenleyen bir proteindir.

8 DNA'nın işlevsel birimi olan genlerin içeriğindeki bilginin amino asit ve protein sentezinde kullanılmasıdır.

Kakao Flavanollerinin Fizyolojik Etkilerinde Nitrik Oksit'in Rolü

KF'nin bilişsel işlevlere ve duygudurumuna olan etkilerinin bu maddenin sebep olduğu fizyolojik değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Flavanolun fizyolojik etkileri hem yapay ortamda (in vitro) (Karim vd., 2000) hem de yaşayan organizmada (in vivo) (Fisher vd., 2003; Heiss vd., 2003) nitrik oksit (NO) sentezlenmesiyle ilişkilidir. NO'nun pek çok biyolojik işlevi olmakla birlikte, kan damarlarını genişletmesi ve nörotransmitter görevi görmesinin KF alımı ile bilişsel işlevler arasındaki ilişkiyi açıklayabileceği öne sürülmüştür (Karabay vd., 2018). Yakın tarihte yayımlanan iki çalışma (Desideri vd., 2012; Mastroiacovo vd., 2014), KF alımının insülin direncini azaltarak bilişsel işlevlere katkı sağladığını ve bu etkilerin NO aracılığıyla gerçekleşmiş olabileceğini göstermektedir. Literatürde KF tüketiminin olumlu fizyolojik etkilerinin NO sentezi aracılığıyla gerçekleştiğine dair genel bir fikir birliği mevcuttur. Bu bölümde KF tüketiminin fizyolojik etkilerinin altında yatan mekanizmalardan NO'nun kan damarlarını genişletmesi, nörotransmitter görevi görmesi ve insülin direncini düzenlemesi üzerinde durulacaktır.

Furchgott ve Zawadzki (1980) asetilkolinin damar genişletici etkilerini, endotel kaynaklı gevşetici faktör (endothelium-derived relaxing factor) olarak adlandırdıkları bir maddenin kan damarlarının iç yüzeyinde yer alan endotel hücreler tarafından salınmasına bağlı olarak keşfetmiştir. Daha sonraki yıllarda endotel kaynaklı gevşetici faktörün renksiz bir gaz molekülü olan NO olduğu tespit edilmiştir (Garthwaite, 1991). NO, NO üretebilen hücreler içinde yarı-esansiyel amino asit⁹ olan arginin-den sentezlenerek hedef hücrelere yayılır ve guanilat siklaz enzimine bağlıdır. Guanilat siklaz enzimi, guanozin trifosfatı ikincil haberci (second messenger) molekülü olan siklik guanozin monofosfata dönüştürür. Siklik guanozin monofostat yoğunluğundaki artış NO'nun nöral etkilerinin altında yatan önemli bir mekanizmadır. Damar düz kası hücreleri içinde gerçekleşen bu değişim düz kasların gevşemesine ve beyne giden atardamarlar (serebral arter) da dâhil olmak üzere kan damarlarının genişlemesine neden olur (Calver vd., 1992). Bu bulgular daha sonra yapılan araştırmalarla da doğrulanmıştır. İnsanlar ve deney hayvanları ile yapılan *in vitro* (Yang vd., 1991) ve *in vivo* (Rees vd., 1989) çalışmalarda, NO sentezinin inhibe edilmesi endotel bağımlı damarların daralmasına (endothelium-dependent vasoconstriction) ve dolayısıyla kan basıncının yükselmesine (hipertansiyon) neden olmuş; arginin uygulanmasıyla bu değişim tersine çevrilmiştir.

Fisher ve diğerleri (2003) yoğun miktarda flavanol içeren kakao alımının NO kaynaklı damar genişlemesine neden olup olmadığını tespit etmek için in vivo çalışma yürütmüştür. Sağlıklı yetişkinlerin yer aldığı çalışmada katılımcılara dört gün boyunca 821 mg flavanol içeren içecek verilmiştir. Ayrıca nitrik oksit sentaz inhibitörlerinden N^G-nitro l-arginin metil ester ilk gün KF alımından önce, beşinci gün KF alımından sonra damar içine enjekte edilmiştir. Temel düzey (baseline) ölçümleriyle karşılaştırıldığında parmaktaki kan akım hızını yordayan nabız dalga genliği (pulse wave amplitude) son doz KF alımından 12 saat sonra %29, akut doz (205 mg) alımından 90 dakika sonra ekstra %33 oranında artmıştır. Nitrik oksit sentaz inhibitörünün uygulanmasıyla flavanolun neden olduğu damar genişliği başlangıçta alınan ölçüm seviyesine dönmüştür. Böylelikle KF alımı sonrasında kan damarlarının NO aracılığıyla genişlediği kanıtlanmıştır.

Merkezi ve çevresel sinir sisteminde nöronların NO salınımı gerçekleştirdiği ve NO'nun nörotransmitter olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Calver vd., 1992). NO pek çok nörotransmitterin aksine yalnızca akson terminalinde bulunan sinaptik keseciklerde depolanmaz; dentritler de dahil olmak üzere üretildiği tüm nöron yapılarından salınımı gerçekleşir (Carlson, 2013). Merkezi sinir sisteminde NMDA glutamat reseptörlerinin uyarılması sonucu postsinaptik nöronda NO salınımı gerçekleşir. Glutamat, postsinaptik nöron üzerinde bulunan NMDA ve AMPA reseptörlerinin bağlanma bölgesine bağlanan uyarıcı bir nörotransmitterdir. AMPA reseptörlerinin glutamat tarafından uyarılması sonucu, ligand¹⁰-kapılı (ligand-gated) sodyum kanalları açılarak pozitif yüklü sodyum iyonları hücre içine girer. Uyarıcı postsinaptik potansiyel olarak isimlendirilen bu süreçte postsinaptik nöronda depolarizasyon (kutuplaşmanın kaybolması) gerçekleşir. Ligand-kapılı kalsiyum iyon kanallarını kontrol eden NMDA reseptörleri ise glutamat tarafından uyarılsa bile, iyon kanalı bloke eden magnezyum iyonları nedeniyle kalsiyumun hücre içine girişi gerçekleşmez. AMPA reseptörleri aracılığıyla postsinaptik nöronun depolarize olması sonucu, magnezyum iyon kanalından çıkar ve kalsiyumun hücre içine girişi gerçekleşir (Carlson, 2013; Garthwaite, 1991). Kalsiyuma bağımlı bir enzim olan kalsiyum kalmodülin kinaz aracılığıyla postsinaptik nöronda NO sentezi gerçekleşir. Postsinaptik nöronun presinaptik terminale difüze olan NO glutamat salınımını artırarak postsinaptik glutamat reseptörlerinde daha fazla aktivasyona ve buna bağlı olarak iki nöron arasında daha güçlü sinaptik bağlantılara neden olur. Dolayısıyla, hafıza oluşumunun hücresel

9 Esansiyel amino asitlerin aksine, insan vücudunda sınırlı miktarda üretilen amino asitlerdir. Beslenme yoluyla yeterli miktarda alınmadığı takdirde sentezlenmesi için amino asitler kullanılır.

10 Reseptörlerin bağlanma bölgesine (binding site) bağlanan kimyasal maddelerdir (örn. nörotransmitterler).

modeli olarak görülen uzun süreli güçlendirmenin (long term potentiation; LTP) gerçekleşmesinde NO önemli bir rol oynamaktadır (Garthwaite, 1991). Hayvan deneylerinde NO sentezinin inhibe edilmesi sonucunda öğrenme işlevinin bozulması (Moncada ve Higgs, 1993) NO'nun öğrenme ve bellek işlevlerinde rol üstlendiğini kanıtlar niteliktedir.

NO'nun bir diğer önemli işlevi ise insülin direncini azaltmada -insülin duyarlılığını artırmada- rol oynamasıdır. İnsülin hormonu bilişsel işlevlerin düzenlenmesinde oldukça önemli bir yere sahiptir; çünkü beyin işlevlerini yerine getirebilmesi için enerji kaynağı olan glikoza ihtiyaç duyar. Hücre içine yeterli miktarda glikozun girebilmesi pankreas tarafından üretilen insülin hormonunun nöron ve glialarda bulunan insülin reseptörlerine bağlanması sayesinde gerçekleşir. İnsülin direnci insülin reseptörlerinin insüline olan duyarlılığının azalması olarak tanımlanabilir. İnsülin direncinin hafif bilişsel bozukluk ve Alzheimer hastalığı riskini artırdığı; Alzheimer hastalarının beyinlerinde ve beyin-omurilik sıvılarında insülin miktarının düşük olduğu, kan plazmalarında ise yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir (Ma vd., 2015). Başlangıçta 1232 katılımcının yer aldığı ve 20 yıldan uzun süren boylamsal bir çalışmada yalnızca insülin direnci yüksek olan katılımcıların bellek ve yönetici işlevleri ölçen testlerde gösterdiği performans 15 ve 20 yılın sonunda dramatik olarak azalmıştır (Lutski vd., 2017). Yüksek miktarda KF alımıyla birlikte sağlıklı yetişkinlerde (Grassi vd., 2005), bilişsel olarak sağlıklı yaşlılarda (Mastroiacovo vd., 2014) ve hafif bilişsel bozukluk görülen bireylerde (Desideri vd., 2012) insülin direncinin azaldığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, KF tüketimi insülin direncinin düzenlenmesinde görev alan NO'nun biyoyararlanımını artırarak bilişsel işlevlere katkıda bulunabilir.

Kakao Flavanollerinin Fizyolojik Etkilerinin İncelendiği Beyin Görüntüleme Çalışmaları

Francis ve diğerleri (2006) pilot çalışmalarında flavanol alımı ile serebral kan akımı arasındaki ilişkiyi manyetik rezonans görüntüleme (MRG) arteriyel spin etiketleme (arterial spin labelling) yöntemini kullanarak incelemiştir. Arteriyel spin etiketleme kan akımı yoluyla dokulara ulaşan su moleküllerinin endojen izleyici (tracer) olarak kullanıldığı ve serebral kan akımının invazif olmayan bir şekilde ölçüldüğü yöntemdir (Alsop ve Detre, 1998; Petcharunpaisan vd., 2010). Yüksek miktarda tek doz (516 mg) KF alan katılımcıların gri maddelerindeki¹¹ (gray matter) serebral kan akımında ciddi

bir artış meydana gelmiştir. Yaklaşık iki saatin sonunda zirveye çıkan kan perfüzyonu¹² (~140 ml/100g/dk), altı saatin sonunda temel düzeyde alınan ölçüm seviyesine (~90 ml/100g/dk) gelmiştir. Fakat katılımcıların plasebo aldıkları (39 mg KF) oturumda kan akımlarında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir. Aynı çalışma ekibi (Francis vd., 2006) çapraz desen çalışmalarında yer alan 16 sağlıklı katılımcının (18-30 yaş arası) kan oksijenlenme düzeyine bağlı (blood oxygen level-dependent; BOLD) sinyallerini ölçerek KF'nin beyin aktivasyonunda neden olduğu değişimleri incelemiştir. fMRG BOLD ölçümleri bilişsel bir görevin uygulandığı sırada beynin aktif bölgelerinde kan oksijenlenme seviyesindeki değişimleri yansıtır. En az iki hafta arayla iki seansta yer alan katılımcılara fMRG ölçümleri alınmadan önce beşer gün boyunca 172 mg ve 13 mg (plasebo) flavanol içeren kakao içeceği verilmiştir. Katılımcıların yalnızca 172 mg KF aldıkları oturumda yönetici işlevlerin değerlendirildiği test sırasında dorsolateral prefrontal korteks, parietal korteks ve anterior singulat korteks bölgelerinde daha fazla aktivasyon gözlenmiştir. Böylelikle araştırmacılar, KF tüketiminin serebral kan akımını ve nöral aktiviteyi artırdığını ilk kez kanıtlayarak bu maddenin bilişsel işlevler ve duygudurum üzerindeki rolünün incelenmesine öncülük etmiştir.

fMRG tekniğinin kullanıldığı bir diğer çalışmada (Brickman vd., 2014) KF'nin bellekten sorumlu beyin bölgesinde neden olduğu fizyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada yer alan 37 sağlıklı katılımcıya (50-69 yaş arası) üç ay boyunca KF (900 mg) ya da plasebo (10 mg KF) verilerek, dentat girus bölgesindeki serebral kan hacmi ölçülmüştür. Yalnızca KF'ye maruz kalan katılımcıların serebral kan hacminde artış gözlenmiştir. Hipokampal oluşumda bulunan dentat girus yeni öğrenilen bilgilerin sağlamlaştırılmasında (consolidation) ve örüntü tanıma belleğinde (pattern recognition memory) önemli bir rol oynamaktadır (Rajaram vd., 2019). Önceki çalışmalarda flavanol alımının serebral kan akımını artırdığı (Francis vd., 2006), dentat girusta dentritik omurga (dendritic spine) ve kılcıl damar oluşumunu artırdığı (van Praag vd., 2007) gösterilmiştir. Kan akımı ve kılcıl damar yoğunluğu birbirleriyle ilişkili olup serebral kan hacmini doğrudan etkiler. Bunun yanı sıra hipokampal oluşum yetişkin beyninde bulunan nöral kök hücrelerin bölünmesiyle yeni nöronların üretildiği, beyin bilinen iki bölgesinden biridir. NO'nun önemli bir rol üstlendiği LTP'nin, dentat girusta yeni dentritik omurga oluşumuna ve mevcut dentritik omurgaların boyutlarında ve yapılarında değişime neden olduğu keşfedilmiştir (Carlson,

11 Sinir sisteminde bulunan nöronların hücre gövdeleri, dentritleri, miyelin kılıfı ile kaplı olmayan aksonları ve glia hücrelerinin oluşturduğu dokulara denir.

12 Perfüzyon, belirli bir doku kütlesindeki kılcıl damarlardan (capillary bed) birim zamanda geçen kan miktarıdır. Kan akımı ml/dk ile ifade edilirken; perfüzyon genellikle ml/100 g/dk şeklinde tanımlanır.

2013). Söz konusu fizyolojik değişimlerin öğrenme ve bellek işlevlerinden sorumlu olduğu; yaşlanmayla birlikte dentat girusun işlevsel bütünlüğünün bozulmasının bellek performansını olumsuz yönde etkilediği kabul edilmektedir (Brickman vd., 2014; Carlson, 2013; Rajaram vd., 2019). Dolayısıyla uzun süreli KF tüketiminin bahsedilen fizyolojik mekanizmalar aracılığıyla bellek performansına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. KF alımının bellek üzerindeki davranışsal etkilerinin incelendiği çalışma bulgularına sonraki bölümde yer verilecektir.

Fox ve diğerleri (2019) tek körlemesine (single-blind) ve çapraz desen çalışmalarında KF içeren bitter çikolatanın etkilerini Pozitron Emisyon Tomografi ve Bilgisayarlı Tomografi (PET-CT) görüntüleme cihazını kullanarak incelemiştir. Araştırmada yer alan 16 katılımcıya (21-58 yaş arası) en az iki hafta arayla beşer gün boyunca bitter çikolata (250 mg KF) ve beyaz çikolata (0 mg KF) verilmiş; her iki seansın dördüncü gününde PET-CT beyin taraması uygulanmıştır. PET uygulamasında, nöral aktivite ile sıkı ilişkili olan glikoz metabolizmasından faydalanılır. Radyoaktif bir madde ile etiketlenmiş bir glikoz molekülü (FDG) damar içine enjekte edildikten sonra PET tarayıcısı FDG'nin beyindeki dağılımını saptayarak nöral aktiviteyi gösteren görüntüler üretir. Katılımcıların bitter çikolata tükettikleri oturumda oksipital korteksin geniş bir voksel kümesinde ve ayrıca somatoduyusal, motor ve prefrontal korteksin daha sınırlı voksel kümelerinde glikoz metabolizmasında ciddi bir artış gözlenmiştir. Araştırmacılar özellikle oksipital kortekte gözlemledikleri değişime dayanarak KF alımının görsel bilgi işleme gerektiren görevlerde performansı destekleyebileceği yorumunda bulunmuştur. Fakat bilişsel görev uygulanmadığı için düzenli KF tüketimi sonrası bahsedilen beyin yapılarının artış gösteren glikoz metabolizmasının davranışsal etkileri test edilememiştir.

Sorond ve diğerleri (2013) bilişsel işlevler ile nörovasküler eşleşme (neurovascular coupling; NVC) arasındaki ilişkiyi ve KF tüketiminin etkilerini çeşitli beyin görüntüleme tekniklerini kullanarak incelemiştir. Oksijen ve glikoz takviyesinin yapıldığı serebral kan akımı ile nöronal aktivasyon arasındaki yakın ilişki NVC olarak adlandırılır. Hipertansiyon, tip 2 diyabet ve/veya vücut kitle indeksi 25 kg/m² üzerinde olan 60 yaşlı katılımcıya (yaş ortalaması 73) bir ay boyunca KF (1218 mg) ya da plasebo (26 mg KF) verilmiştir. İki-Geri Görevinin (N-Back Task) (Kirschner, 1958) uygulandığı esnada, Transkraniyel Doppler Ultrasonografi yönetimiyle orta serebral arterden serebral kan akım hızı ölçülerek NVC değeri belirlenmiştir. Ayrıca MRG kullanılarak 24 katı-

lımcının beyaz madde¹³ bütünlüğü ve beyaz madde hiperintensitesi¹⁴ değerlendirilmiştir. NVC'si zarar görmemiş bireylerin (2-Geri Görevi sırasında >%5 serebral kan akım değişimi) daha fazla normal beyaz madde hacmine ve daha düşük anormal beyaz madde (beyaz madde hiperintensitesi) hacmine sahip olduğu bulunmuştur. NVC seviyesindeki değişimde flavanol ve plasebo koşulları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat bir ay boyunca KF ve plasebo alımından sonra temel düzeyde NVC'si düşük olan katılımcıların NVC seviyesinde artış gözlenmiştir. Başka bir ifadeyle, flavanol miktarına bağlı olmaksızın, kakao tüketiminin bilişsel bir görevin uygulandığı esnada görevle ilişkili beyin bölgelerindeki kan akımını artırdığı gösterilmiştir.

Camfield ve diğerleri (2012) uzun süreli kakao tüketiminin durağan hal görsel uyarılmış potansiyele (steady state visually evoked potential; SSVEP) etkisini uzamsal çalışma belleği (spatial working memory) görevi özelinde incelemiştir. SSVEP yöntemi, bilişsel görevden ilgisiz olan bir görsel titreme uyarıcısının (visual flicker) 13 Hz hızında gösterilmesi sonucunda elde edilen, kafa derisinden toplanan elektriksel yük ile ölçülür. Bu yöntem sonucunda görsel uyanıklık (visual vigilance) gerektiren görevlerde ölçümlenen elektriksel genlik (amplitude), ölçüm toplanan bölgelerdeki aktiviteye işaret eder. Araştırmada yer alan 63 orta yaşlı katılımcı (40-65 yaş arası) bir ay boyunca her gün 500 mg (yüksek doz), 250 mg (düşük doz) flavanol içeren ya da flavanol içermeyen (plasebo) kakao içeceğini tüketmiştir. Öntest ve sontest arasında KF tüketimi sonucunda davranışsal bir etki gözlemlenmesine de çalışma belleğinde bilgiyi kodlama (encoding), sürdürme (maintenance) ve geri getirme (retrieval) sırasında ortalama SSVEP'de posterior parietal ve merkezi-frontal bölgelerinde anlamlı olarak yüksek değerler gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bu gözlemlerini uzun süreli KF tüketiminin uzamsal çalışma belleği ile ilgili görevlerde nöral etkinliği artırdığı yönünde yorumlamıştır.

Uzun Süreli Kakao Flavanollerinin Alımının Bilişsel İşlevlere Etkileri

KF'nin endotel hücrelerde NO sentezlemesi aracılığıyla kan damarlarını genişletmesi (Fisher vd., 2003), NO'nun nörotransmitter görevi görmesi (Calver vd., 1992) ve sinaptik bağlantıları güçlendirmesi (Garthwaite, 1991), kan basıncı ve insülin direncini azaltması (Grassi vd., 2005) ve beyinde kan akımını artırması (Francis vd., 2006) gibi fizyolojik etkilerine dair bulgulardan yola çıkarak bu maddenin bilişsel işlevleri destekleyeceğine ve yaşlanmayla birlikte kaçınılmaz olarak

13 Miyelin kılıfı ile kaplı aksonların oluşturduğu dokular beyaz madde (white matter) olarak tanımlanır.

14 Aksonların miyelin kaybı ve dejenerasyonu ile karakterize lezyonlar, Manyetik Rezonans Görüntülemeye daha parlak görünümü sağlayan yapılar nedeniyle *hiperintense* olarak adlandırılır.

ortaya çıkan bilişsel gerilemenin etkilerini azaltacağına dair iddialarda bulunulmuştur (örn. Desideri vd., 2012; Mastroiacovo vd., 2014). Özellikle yaşlanmayla birlikte işleme hızı, çalışma belleği kapasitesi, ketleyici işlevler ve uzun süreli bellek de dahil olmak üzere pek çok bilişsel işlevlerde progresif olarak bozulmalar görülmektedir (Park ve Reuter-Lorenz, 2009). Bilişsel işlevlerde görülen bozulmaların temelinde metabolik işlev bozukluğu (Lutski vd., 2017; Ma vd., 2015), artan oksidatif stres (Diplock, 1998), damar yapısındaki değişimler ve diğer kardiyovasküler risk faktörleri (Mastroiacovo vd., 2014) yatmaktadır. Bilişsel işlevlerde gerilemeden sorumlu patolojilerin özellikle ileri yaşlarda ortaya çıkması nedeniyle yaşlılar KF tüketiminden daha fazla fayda sağlayabilir. Bu bağlamda, KF çalışmalarında örneklem genellikle 40 yaş üstü yetişkin ve yaşlı bireylerden seçilmiştir (Tablo 1). KF'nin bilişsel işlevlerdeki rolünün incelendiği çalışmalarda elde edilen bulgular fizyolojik etkilerinin aksine oldukça farklılaşmaktadır (Tablo 1).

Mastroiacovo ve diğerleri (2014) bilişsel olarak sağlıklı yaşlı bireylerde (65-85 yaş arası), düzenli KF alımının bilişsel ve fizyolojik etkilerini incelemiştir. Araştırmada yer alan 90 katılımcıya sekiz hafta boyunca her gün yüksek doz KF (993 mg), düşük doz KF (520 mg) ya da plasebo (48 mg KF) verilmiştir. Bilişsel performans başlangıçta ve sekiz haftanın sonunda Mini Mental Durum Değerlendirme Testi (MMDD) (Folstein vd., 1975), İz Sürme Testi (Partington ve Leiter, 1949) ve Sözel Acıklık Testi (Borkowski vd., 1967) kullanılarak değerlendirilmiştir. Flavanol alımının fizyolojik etkileri ise sistolik¹⁵/diastolik¹⁶ kan basıncı, glikoz ve insülin değerleri ölçülerek belirlenmiştir. KF, MMDD testi skorunda herhangi bir etkiye neden olmamıştır. Ancak temel düzey ölçümlerinde katılımcıların 30 üzerinden ortalama 29 puan aldıkları dikkate alındığında sonuçlar şaşırtıcı değildir: KF'nin MMDD testi üzerindeki etkileri tavan etkisi¹⁷ nedeniyle gözlemlenememiştir. Görsel arama, planlama, çalışma belleği ve zihinsel esneklik gibi bilişsel becerilerin değerlendirildiği İz Sürme Testi'nin (Cangöz vd., 2007; Türkeş vd., 2015) hem A hem de B bölümünde yüksek ve düşük doz KF'ye maruz kalan katılımcılar daha iyi performans sergilemiş, testi tamamlamaları için gereken süre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır. Semantik bellek, yönetici işlevler ve dikkati sürdürme becerisini ölçen Sözel Acıklık Testinde, özellikle yüksek doz KF alan katılımcıların aldığı skorlarda kayda değer bir artış gözlenmekle birlikte tüm katılımcılar daha iyi performans göstermiştir. Hem yüksek doz hem de düşük doz KF alan katılımcıların

genel bilişsel işlevler skoru temel düzey ölçümleriyle karşılaştırıldığında anlamlı derecede artmıştır. Fizyolojik ölçümlerde de benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Sekiz haftanın sonunda yüksek ve düşük doz KF alan katılımcıların sistolik ve diastolik kan basıncı azalmış, insülin duyarlılığı artmıştır. Regresyon analizine göre bilişsel işlevlerdeki artışın en önemli yordayıcısının insülin duyarlılığındaki artış olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma deseni, test materyalleri ve fizyolojik ölçümlerin aynı olduğu benzer bir çalışma, *Cocoa, Cognition and Aging (CoCoA)* adlı aynı çalışma ekibi tarafından hafif bilişsel bozukluk (HBB) görülen örneklemde yapılmıştır (Desideri vd., 2012). HBB, normal yaşlanma ile demans arasındaki geçiş evresini ifade etmektedir. Bu terim bellekte bozulmaların görüldüğü fakat diğer bilişsel işlevlerin nispeten korunduğu ve günlük yaşam aktivitelerini sürdürebilen, dolayısıyla demansın dışlandığı bireyleri tanımlamak için kullanılmıştır (Petersen vd., 1997). Desideri ve diğerleri (2012) uzun süreli flavanol alımının Petersen kriterlerine göre HBB teşhisi konmuş hastalar üzerinde bilişsel ve fizyolojik değişimlerini incelemiştir. Sekiz hafta boyunca yalnızca yüksek ve düşük doz KF alımı katılımcıların İz Sürme Testi'nde daha iyi performans göstermesini sağlamıştır. Sözel Acıklık Testinde ise tüm katılımcılar sekiz haftanın sonunda daha iyi performans göstermekle birlikte, bu değişim yüksek ve düşük doz KF alımında daha belirgin olmuştur. Bunlara insülin direncinin ve kan basıncının azalması gibi fizyolojik değişimler eşlik etmiştir. Regresyon analizine göre KF alımı sonrası değişen insülin direnci genel bilişsel işlevler skorunu yaklaşık %40 oranında yordamıştır. İnsülin direnci ile bilişsel performans arasında negatif ilişki olduğunu gösteren iki çalışma (Desideri vd., 2012; Mastroiacovo vd., 2014) glikoz metabolizmasının bilişsel işlevlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Subkronik düzeyde KF tüketimi insülin duyarlılığını artırarak hem sağlıklı yaşlı bireylerde hem de HBB tanısı konmuş hastalarda yönetici işlevler, uzun süreli episodik bellek, kısa süreli bellek ve işleme hızı gibi bilişsel işlevleri desteklemektedir.

Son derece titizlikle tasarlanan bir diğer çalışmada (Brickman vd., 2014), KF alımının bellek ile ilişkili beyin bölgesinde neden olduğu fizyolojik ve bilişsel etkileri incelenmiştir. Başlangıçta ekolojik geçerliği yüksek Benton Görsel Bellek Testi (Benton, 1974) kullanılması planlanmış olsa da testin bilişsel olarak sağlıklı katılımcılar için yeteri kadar zorlayıcı olmaması ve tavan etkisinin ortaya çıkması gerekçesiyle test üzerinde birtakım değişiklikler yapıp modifiye Benton Testi (ModBent)

15 Sistolik kan basıncı kalp kasıldığı sırada kalpten pompalanan kanın, kan damarlarının çeperinde yaptığı basıncı ifade eder.

16 Diastolik kan basıncı kalp gevşediğinde, kanın damar çeperindeki mevcut basıncını ifade eder.

17 Bir çalışmadaki katılımcıların büyük bir kısmının gözlenen değişken üzerinde en yüksek ya da en yükseğe yakın puanlar alması durumudur.

Tablo 1. Uzun Süreli Kakao Flavanollerini Alımının Bilişsel İşlevler ve/veya Duygudurumu Üzerindeki Etkilerini İnceleyen Çalışmaların Özeti

Kaynak	Örneklem	Desen	Süre (gün)	KF Miktarı	Temel Bulgular
Francis vd. (2006)	16 katılımcı (16 kadın, 18-30 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Çapraz	5	172 mg (flavanol) ve 13 mg (kontrol)	Flavanol koşulunda Görev Değişimi testi sırasında BOLD sinyalleri artmıştır. Görev Değişimi testinde flavanol ve kontrol koşulları arasında farklılık gözlemlenmiştir.
Crews vd. (2008)	90 katılımcı (52 kadın; ort. yaş: 69)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	42	755 mg (flavanol) ya da 41 mg (kontrol)	Bilişsel işlevleri ölçen test bataryasında ve kardiyovasküler parametrelerde (örn. sistolik/diastolik kan basıncı) gruplar arası farklılık bulunmamıştır.
Sathyapalan vd. (2010)	10 KYS olan katılımcı (ort yaş: 59)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Çapraz	56	950 mg (flavanol) ve 10 mg (kontrol)	Flavanol koşulunda, zihinsel ve fiziksel yorgunluk azalmıştır (CFQ); depresyon ve kaygı semptomları azalmıştır (HADS); sağlıklı ilgili genel yaşam kalitesi artmıştır (LHS).
Desideri vd. (2012)	90 HBB olan katılımcı (64-82 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	56	990 mg (yüksek doz), 520 mg (düşük doz) ya da 45 mg (kontrol)	Yüksek ve düşük doz KF koşulunda kan basıncı ve instilin direnci azalmıştır; İz Sürme Testinde (A-B) performans artmıştır. Tüm koşullarda özellikle yüksek ve düşük doz- Sözel Akıcılık Testinde performans artışı gözlemlenmiştir.
Camfield vd. (2012)	63 katılımcı (40-65 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	30	500 mg (yüksek doz), 250 mg (düşük doz) ya da 0 mg (kontrol)	Uzamsal çalışma belleği görevinde gruplar arası farklılık bulunmamıştır. Fakat çalışma belleğinde bilgiyi kodlama, sürdürme ve geri getirme sırasında, SSVEP'de posterior parietal ve merkezi-frontal bölgelerde yüksek değerler gözlemlenmiştir.
Pase vd. (2013)	72 katılımcı (40-65 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	30	500 mg (yüksek doz), 250 mg (düşük doz) ya da 0 mg (kontrol)	Bilişsel işlevleri ölçen CDR'de gruplar arası farklılık bulunmamıştır. Yüksek doz KF koşulunda, Bond-Lader Ölçeği'nin sakinlik ve hoşnutsuzluk alt boyutlarında yüksek duygudurum skoru bildirilmiştir.
Sorond vd. (2013)	60 VRF olan katılımcı (ort. yaş: 73)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	30	1218 mg (yüksek doz) ya da 26 mg (kontrol)	Her iki koşulda NVC'si düşük katılımcılarda NVC seviyesinde ve İz Sürme Testi B bölümünde performans artışı gerçekleşmiştir.

Brickman vd. (2014)	37 katılımcı (50-69 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	90	900 mg (flavanol) ya da 10 mg (kontrol)	Flavanol koşulunda, dentat girus bölgesindeki serebral kan hacminde ve ModBent testinde performans artışı gerçekleşmiştir.
Mastroiacovo vd. (2014)	90 katılımcı (65-85 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	56	993 mg (yüksek doz), 520 mg (düşük doz) ya da 48 mg (kontrol)	Yüksek ve düşük doz KF koşulunda kan basıncı ve insülin direnci azalmıştır; İz Sürme Testinde (A-B) performans artmıştır. Tüm koşullarda -özellikle yüksek doz- Sözel Aktıcılık Testinde performans artışı gözlenmiştir.
Masse ve vd. (2015)	40 katılımcı (18-40 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	28	250 mg (flavanol) ya da 0 mg (kontrol)	Bilişsel işlevleri ölçen SUCCAB ve CDB testlerinde performans değişmemiştir; kardiyovasküler ölçümlerde serebral kan akımı ve kan basıncı değişmemiştir.
Neshatdoust vd. (2016)	40 katılımcı (18 kadın, 65-72 yaş)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Çapraz	28	494 mg (flavanol) ve 23 mg (kontrol)	Flavanol koşulunda serum BDNF seviyesi ve genel bilişsel performansı artmıştır.
Ibero-Barraibar vd. (2016)	47 obezite hastası (ort yaş: 57)	Seçkisiz, Çift Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Paralel	28	645 mg ya da kontrol	Anksiyete (STAI) ve depresyon (BDI) semptomları bakımından iki grup arasında farklılık gözlenmemiştir. Flavanol koşulundaki katılımcıların plazma HVA seviyesi artmıştır.
Fox vd. (2019)	16 katılımcı (21-58 yaş; ort yaş:34)	Seçkisiz, Tek Körlemesine, Plasebo Kontrollü, Çapraz	5	250 mg (flavanol) ve 0 mg (kontrol)	Anksiyete ve depresyon semptomlarının tarandığı HADS'da iki koşul arasında farklılık gözlenmemiştir. Flavanol koşulunda, oksipital, motor, somatoduyusal ve prefrontal kortekste glikoz metabolizmasında artış olmuştur.

BDI, Beck Depression Inventory (Beck Depresyon Envanteri); *BOLD*, Blood-Oxygen Level Dependent (Kan Oksijenlenme Düzeyine Bağlı); *BDNF*, Brain-Derived Neurotrophic Factor (Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör); *CDB*, Cognitive Demand Battery (Bilişsel Demand Bataryası); *CDR*, Cognitive Drug Research computerized assessment system (Bilişsel Madde Araştırması bilgisayar tabanlı değerlendirme sistemi); *CFQ*, Chalder Fatigue Scale (Chalder Yorgunluk Ölçeği); *HADS*, Hospital Anxiety and Depression Scale (Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeği); *HBB*, Haff Bilişsel Bozukluk; *HVA*, Homovanilik Asit; *KF*, Kakao Flavanoller; *KYS*, Kronik Yorgunluk Sendromu; *LHS*, London Handicap Scale (Londra Engellilik Ölçeği); *ModBent*, Modified Benton Görsel Bellek Testi; *NFC*, Neurovascular coupling (Nörovasküler eşleşme); *PEFCT*, Positron Emission Tomography-Computed Tomography (Pozitron Emisyon Tomografi-Bilgisayarlı Tomografi); *SSVEP*, Steady state visually evoked potential (Duragan hal görsel uyartılmış potansiyel); *STAI*, State-Trait Anxiety Inventory (Durumluk-Süreklilik Kayıt Envanteri); *SUCCAB*, Swinburne University Computerized Cognitive Assessment Battery (Swinburne Üniversitesi Bilişsel Değerlendirme Bataryası); *VRP*, Vasküler risk faktörleri

geliştirilmiştir. Görsel algı, görsel bellek ve görsel mekansal becerileri ölçmek için uygulanan ModBent eşleştirme ve tanıma görevlerini içermektedir. Eşleştirme görevinde katılımcılardan sırayla sunulan her bir karmaşık şekle 10 saniye boyunca bakmaları ve 1 saniye gösterilen boş ekrandan sonra birbirine benzeyen iki seçenek arasından eşleştirmeleri istenir. Tanıma görevinde ise sunulan şekillerin eşleştirme denemelerinde kendilerine gösterilip gösterilmediğini hatırlayıp rapor etmeleri istenir. Brickman ve diğerleri (2014) yaşlanmanın ModBent performansına olan etkisini gözlemlemek için yaşları 21 ile 69 arasında değişen 149 katılımcının tepki sürelerini karşılaştırmış ve her 10 yaş için tepki süresinin ortalama 220 ms yavaşladığını tespit etmiştir. Aynı zamanda testin dentat girus bölgesine duyarlı olup olmadığını belirlemek için 35 genç katılımcının serebral kan hacmini fMRG kullanarak incelemiştir. Bilişsel performans ile dentat girus bölgesindeki serebral kan hacmi arasında pozitif ilişki saptanmıştır. Aynı çalışmada yaşları 50-69 arasında değişen 37 sağlıklı katılımcıya üç ay boyunca KF (900 mg) ya da plasebo (10 mg KF) verilmiştir. KF alan katılımcılar bu sürenin sonunda ModBent test performansında kayda değer bir artış göstermiştir. İki grup arasındaki tepki süresi farkının ortalama 630 ms olduğu ortaya çıkmıştır (KF koşulu:1997 ms, plasebo koşulu: 2627 ms). Benzer şekilde KF'ye maruz kalan katılımcıların dentat girus bölgesindeki serebral kan hacminde artış gözlenmiştir. Brickman ve diğerleri (2014) dentat girus işlevlerine duyarlı ModBent testini uygulayarak, kronik düzeyde KF alımının bellek işlevlerine katkıda bulunduğunu net bir şekilde göstermiştir. Bellek işlevlerinde gözlemlenen bu değişimin altında yatan fizyolojik mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, dentat girusta yeni kan damarlarının oluşumu (anjyogenez), yeni nöronların üretilmesi (nörojenez) ve dentritik omurga sayısında ve yapısındaki değişikliklere bağlı olarak yeni sinaptik bağlantıların kurulması (sinaptojeniz) ihtimaller dahilindedir.

Neshatdoust ve diğerleri (2016) düzenli KF alımı sonrasında kan serumu¹⁸ içindeki BDNF konsantrasyonu ile bilişsel işlevler arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Yaşları 65-72 arasında değişen 40 sağlıklı yetişkinin bulunduğu iki aşamalı çapraz desen çalışmada katılımcılara dört hafta boyunca KF (494 mg) ve plasebo (23 mg KF) verilmiştir. Her iki aşamanın sonunda yaklaşık 90 dakikada tamamlanan nöropsikolojik test bataryası uygulanarak bilişsel işlevler değerlendirilmiştir. Test bataryası yönetici işlevlerin ketleme (inhibition) bileşenini ölçen Stroop Renk-Kelime Testini (Stroop, 1935), yönetici işlevlerin görev değişimi (shifting) bileşenini ölçen İz Sürme Testini, yönetici işlevlerin güncelleme (updating)

bileşenini ölçen Harf Hatırlama Testini (Letter Memory) (Morris ve Jones, 1990) ve episodik belleği ölçen Serbest ve Gecikmeli Hatırlama (Free and Delayed Recall) (Morris ve Baddeley, 1988) görevlerini içermektedir. Test bataryasında uzamsal bellek, örtük bellek, dikkat, işleme hızı ve çalışma belleğini değerlendiren görevler de yer almaktadır. Temel düzeyde ve KF alımı sonrasında her bir testten alınan puanlar z-skoruna çevrilerek ortalamaları alınmış ve genel bilişsel performans adı altında gruplandırılmıştır. Temel düzey ölçümleriyle karşılaştırıldığında yalnızca KF alımı serum BDNF seviyesinde ve genel bilişsel performansta kayda değer bir artışa neden olmuştur. Ayrıca bilişsel performans ile serum BDNF seviyesi arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur. Literatürde BDNF'nin nörojenez ve sinaptik plastisitede rol oynadığına dair çalışmalar yer almaktadır: BDNF'nin damar içine enjekte edilmesi talamus, septum, striatum ve koku soğancığı bölgelerinde nöron sayısında artışa neden olmuştur (Binder ve Scharfman, 2004). Ayrıca hem NMDA reseptörlerinin sayısında hem de NMDA iyon kanalını tıkayan magnezyum iyonlarını boşaltarak hücre içi kalsiyum yoğunluğunda artışa neden olduğu bulunmuştur. Böylelikle sinaptik aktivitede uzun süreli değişime (LTP) zemin hazırlayarak sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde görev alır (Bathina ve Das, 2015). Neshatdoust ve diğerleri (2016) uzun süreli KF alımının tetiklediği BDNF seviyesindeki artışın daha iyi bilişsel performansını yordayabileceğini açık bir şekilde göstermiştir.

Yukarıda aktarılan çalışmaların aksine KF alımının bilişsel işlevlere herhangi bir etkisinin olmadığını gösteren kanıtlar da yer almaktadır. Francis ve diğerleri (2006) flavanolun bilişsel işlevler üzerindeki subakut etkisini incelemek için fMRG kullanmıştır. Çapraz desen çalışmalarında harf-rakam görev değişimi (letter-digit task switching) (Rogers ve Monsell, 1995) testi verilen katılımcıların BOLD sinyalleri ölçülmüştür. Görev değişimi farklı bilişsel görevler arasında hızlı geçişlerin yapılmasını gerektiren, yönetici işlevlerin ölçüldüğü bir paradigmadır. Bu çalışmada katılımcı uygulanan görev değişim testinde öncelikle harf ve rakam uyaranlarını sesli-sessiz harf ve tek-çift sayı kriterine göre değerlendirmeyi öğrenir. fMRG taramasının yapıldığı test aşamasında harf-rakam çifti kırmızı renkte sunulduğunda sesli-sessiz harf, mavi renkte sunulduğunda ise tek-çift sayı kriterine göre yanıt verilmesi istenir. Her bir bloktaki harf-rakam çiftleri değişim (switch) koşulunda değişen renklerde sunulurken, tekrar (non-switch; repeat) koşulunda aynı renklerde sunulmuştur. Değişim koşulundaki denemelerde katılımcının tepki süresi tekrar koşulundakilere kıyasla daha yavaş olmaktadır. Tepki süresi bedeli

18 Kan serumu, kan pıhtılaştıktan sonra geri kalan sıvı kısmıdır. Kan serumu içindeki BDNF konsantrasyonu, kan plazmasındaki BDNF'ye göre yaklaşık 100 kat daha fazla olduğu için bu çalışmada serum BDNF değeri ölçülmüştür.

(switch cost; reaction time cost) olarak adlandırılan değişim ve tekrar koşullarındaki tepki süresi farkı yönetici kontrol süreçlerinin dahil olmasına atfedilmektedir (Wylie ve Allport, 2000). En az iki hafta arayla iki seansta yer alan katılımcılara fMRG ölçümleri alınmadan önce beşer gün boyunca 172 mg flavanol (KF koşulu) ve 13 mg flavanol (plasebo) içeren kakao içeceği verilmiştir. Katılımcıların KF aldığı oturumda dorsolateral prefrontal korteks, parietal korteks ve anterior singulat korteks bölgelerinde daha fazla aktivasyon gözlenmesine rağmen, harf-rakam görev değişimi testinin tepki süresi, tepki süresi bedeli ve hata oranı gibi parametrelerinde KF herhangi bir etkiye neden olmamıştır. Flavanolun davranışsal ölçümlere yansımamasının olası bir nedeni öğrenme etkisini minimize etmek için katılımcıların teste başlamadan önce %5'ten daha az hata yapacak düzeyde pratik yapmaları olabilir. Bu nedenle tavan etkisinden dolayı KF alımının davranışsal ölçümlere yansımamış olabileceği hesaba katılmalıdır. Bunun yanı sıra yaş ve patolojinin harf-rakam görev değişim testinin özellikle tepki süresi performansında oldukça belirleyici olduğu yakın zamanda yayımlanan bir çalışmada (Velichkovsya vd., 2020) gösterilmiştir. Dolayısıyla bilişsel olarak sağlıklı yaşlıların ya da demans hastalarının yer aldığı benzer bir çalışmada farklı sonuçlara ulaşılabilir.

Genç katılımcıların (18-40 yaş arası) yer aldığı başka bir çalışmada (Massee vd., 2015), KF alımının bilişsel performans ve kalp damar sağlığına olan subkronik etkileri incelenmiştir. Plasebo etkisini kontrol etmek için katılımcıların yarısına 250 mg KF içeren tablet, diğer yarısına görünüşü, boyutu ve rengi aynı olan plasebo tablet verilmiştir. KF'nin izole bir şekilde tablet formunda uygulanarak madde etkileşimlerinin kontrol altına alınması bakımından bu çalışma diğerlerinden ayrılmaktadır. Dikkat, çalışma belleği ve episodik bellek gibi bilişin çeşitli yönlerinin değerlendirildiği Swinburne Üniversitesi Bilişsel Değerlendirme Bataryası (SUCCAB) ve tavan etkisinden kaçınmak için bilişsel açıdan oldukça yorucu olan Bilişsel Test Bataryası (Cognitive Demand Battery, CDB) 28 günün sonunda uygulanmıştır. Kalp damar sağlığı işlevleri ise çevresel ve merkezi kan basıncı ve serebral kan akım hızı ölçülerek değerlendirilmiştir. Dört hafta boyunca KF içeren tableti alan katılımcıların SUCCAB ve CDB'de gösterdikleri performans değişmemiştir. Ayrıca deneysel değişimlemenin kalp damar sağlığı ölçümlerinde subkronik düzeyde bir etkisi ortaya çıkmamıştır. KF alımının kardiyovasküler ve bilişsel ölçümlere yansımaması flavanol dozunun (250 mg) düşük olmasına atfedilmiştir.

Pase ve diğerleri (2013) yaşları 40 ile 65 arasında değişen sağlıklı katılımcılarda KF alımının bilişsel performansa olan subkronik etkilerini incelemiştir. Otuz

gün boyunca KF içeren (250 mg ya da 500 mg) ya da KF içermeyen içecek verilen katılımcılar bu sürenin sonunda çeşitli bilişsel işlevleri ölçen değerlendirme testlerine tabi tutulmuştur. Bilişsel performans, psikoaktif maddelerin neden olduğu bilişsel işlevlerdeki değişimlere hassas ve yüksek geçerliğe sahip olan Bilişsel Madde Araştırması bilgisayar tabanlı değerlendirme sistemi (Cognitive Drug Research computerized assessment system, CDR) (Wesnes vd., 1987) kullanılarak ölçülmüştür. Yaklaşık yarım saatte tamamlanan ve 10 görevi içeren test bataryası epizodik bellek, çalışma belleği ve dikkati ölçmektedir. Uzun süreli KF tüketiminin bilişsel işlevlere etkileri bu çalışmada gözlemlenmemiştir. KF alımı hiçbir koşulda subkronik düzeyde bilişsel performansı etkilememiştir.

Uzun süreli kakao tüketiminin özellikle risk altındaki bireylerin bilişsel işlevlerini olumlu yönde etkilediğine yönelik kanıtlardan yola çıkarak Sorond ve diğerleri (2013) vasküler risk faktörlerine sahip bireylere düzenli KF vererek bilişsel işlevler ile nörovasküler eşleşme (NVC) arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Katılımcılara bir ay boyunca KF (1218 mg) ya da plasebo (26 mg KF) verilerek bilişsel ve fizyolojik ölçümler alınmıştır. Bilişsel işlevler Mini Mental Durum Değerlendirme Testi, 2-Geri Görevi ve İz Sürme Testi ile değerlendirilmiştir. NVC'si zarar görmemiş bireylerin (2-Geri Görevi sırasında >%5 serebral kan akım değişimi) 2-Geri Görevi ve İz Sürme Görevi B Bölümü performansının, NVC'si bozulmuş (2-Geri Görevi sırasında <%5 serebral kan akım değişimi) bireylerin performansından daha iyi olduğu bulunmuştur. NVC seviyesindeki değişimde KF ve plasebo koşulları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat temel düzeyde NVC seviyesi düşük olan katılımcıların bir ay boyunca kakao tüketmesi sonucunda İz Sürme Testinin B Bölümünde testi tamamlamaları için gereken süre azalmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular NVC'nin bilişsel performans ve beyaz madde bütünlüğü ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Risk grubunda olan katılımcıların flavanol miktarından bağımsız olarak kakao tüketmesiyle NVC seviyelerinin ve yönetici işlevler performansının artış göstermesi, kakao'nun diğer bileşenlerinin bu değişkenler üzerinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Fakat kakao için plasebo koşulunun uygulanmaması nedeniyle gözlemlenen bulguların plasebo etkisinden kaynaklanmış olabileceği dikkate alınmalıdır.

Crews ve diğerleri (2008) KF'nin bilişsel işlevlere ve kardiyovasküler sağlığa olan subkronik etkilerini incelemiştir. Altı hafta boyunca 755 mg KF ya da 41 mg KF (plasebo) içeren bitter çikolata ve kakao içeceğini düzenli tüketen sağlıklı katılımcılar (yaş ortalaması 69), üç ve altı haftanın sonunda çeşitli bilişsel işlevlerin değerlendirildiği testleri tamamlamıştır: Seçici Hatırlat-

ma Testi (Selective Reminding Test; Buschke, 1973), İz Sürme Testi, Stroop Renk-Kelime Testi, Wechsler Bellek Ölçeği-III İnsan Yüzleri I ve II alt testleri (Wechsler, 1997b) ve Wechsler Zekâ Ölçeği-III Rakam-Sembol Kodlama alt testi (Wechsler, 1997a). Diğer çalışmalarda kullanılan KF takviyesi (örn. Masee vd., 2015; Neshatdoust vd., 2016) dikkate alındığında göreceli olarak yüksek miktarda KF'nin uygulandığı bu çalışmada katılımcıların bilişsel performansı ve kan basıncı gibi fizyolojik ölçümleri üç ve altı haftanın sonunda değişmemiştir. Benzer şekilde hem fizyolojik hem de bilişsel işlevlerde plasebo ve KF koşulları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Araştırmacılar katılımcıların bilişsel olarak sağlıklı olması nedeniyle KF tüketiminden yeteri kadar fayda sağlamamış olabileceğine dikkat çekmiştir. KF'nin bilişsel işlevleri desteklememesinin bir diğer olası nedeniyse deneyde kullanılan kakao ve çikolata ürünlerinin çok düşük miktarda epikateşin içermesidir (Haskell-Ramsay vd., 2018).

Uzun Süreli Kakao Flavanollerini Alımının Duygudurumuna Etkileri

Başta çikolata olmak üzere kakao ürünleri sıklıkla haz ve mutluluk ile ilişkilendirilir. Karbonhidrat, feniletamin, kafein, triptofan, anandamid ve magnezyum duygudurumunu düzenlemede rol oynadığı düşünülen başlıca kakao bileşenleridir. Söz konusu biyoaktif maddelerin etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (bkz: Nehlig, 2013; Tuenter vd., 2018). Uzun süreli KF alımının duygudurum üzerindeki etkilerini ele alan seçkisiz kontrollü çalışmalar ise oldukça sınırlıdır. Fakat bu maddenin neden olduğu fizyolojik değişimlerin duygudurumunu düzenleyeceğine dair güçlü kanıtlar mevcuttur (Smith, 2013; Tuenter vd., 2018). Örneğin, BDNF adlı proteinin düşük miktarda olması (Sleiman vd., 2016), artan oksidatif stres (Westfall ve Pasinetti, 2019) ve serebral kan akımının azalması (Sackeim vd., 1990) duygudurum bozukluğu olan depresyonun fizyopatolojisinde rol oynayan bazı önemli faktörlerdendir. KF alımının antioksidan aktivitesi sağlaması (Lee vd., 2003), BDNF seviyesini (Neshatdoust vd., 2016) ve serebral kan akımını artırması (Francis vd., 2006) gibi bulgular ışığında, KF'nin anksiyete, depresyon, zihinsel yorgunluk ve stres seviyesi gibi değişkenler üzerindeki etkileri incelenmiştir (Tablo 1).

Masee ve diğerleri (2015) KF'nin duygudurum üzerindeki subkronik etkilerini zihinsel yorgunluk Görsel Analog Ölçeği (Visual Analogue Scale) (Hayes ve Patterson, 1921) alt testini de içeren Bilişsel Test Bataryasını (CDB) uygulayarak değerlendirmiştir. CDB bilişsel işlevlerin yanı sıra devam eden bilişsel yük esnasındaki zihinsel yorgunluğu değerlendirmek için kullanılır. Bilişsel olarak sağlıklı gençlerde dahi test performansı-

nın giderek azaldığı ve bununla ilişkili olarak zihinsel yorgunluk seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Masee vd., 2015; Scholey vd., 2010). Sağlıklı 40 yetişkinin yer aldığı çalışmada katılımcılar dört hafta boyunca 250 mg KF içeren tablet ya da plasebo tablet almıştır. Katılımcılar bu sürenin sonunda çeşitli bilişsel görevleri tamamladıktan sonra test bataryasının son bölümünde yer alan Görsel Analog Ölçeğini doldurmuştur. Testte önel olarak deneyimlenen zihinsel yorgunluk ve stres seviyesi, bir ucunda 'Hiç hissetmiyorum', diğer ucunda ise 'Son derece hissediyorum' ifadeleri yer alan bir çizgi üzerinde işaretlenerek rapor edilmektedir. Fakat söz konusu değişkenler için iki grup arasında bir fark saptanamamıştır. KF'nin duygudurum ve zihinsel yorgunluk üzerinde bir etkiye neden olmaması flavanol miktarının düşük olmasıyla açıklanmıştır.

Fox ve diğerleri (2019) tek körlemesine ve çapraz desen çalışmalarında KF'nin duygudurum ve anksiyete üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Ayrıca PET-CT görüntüleme cihazı kullanılarak bölgesel beyin aktivitelerine bakılmıştır. Katılımcılar en az iki hafta arayla beşer gün boyunca 250 mg flavanol ve 43 mg kafein içeren bitter çikolata ve bu maddeleri içermeyen beyaz çikolata tüketmiştir. Duygudurum, Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeği (Hospital Anxiety and Depression Scale; HADS) (Zigmond ve Snaith, 1983) kullanılarak değerlendirilmiştir. Hastane ortamında kullanılmak üzere geliştirilen HADS, anksiyete ve depresyon semptomlarının tarandığı bir öz bildirim ölçeğidir. Yanıtlarının 4'lü Likert biçiminde değerlendirildiği anket formunda 14 madde yer almaktadır. Katılımcıların bitter çikolata tükettikleri beş günün sonunda HADS'dan aldıkları skorda bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlar PET-CT taramasından elde edilen görüntülerle desteklenmiştir. Beyaz çikolata ile karşılaştırıldığında bitter çikolata tüketiminin limbik korteks ve amigdala gibi duygulardan sorumlu beyin bölgelerinin aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Araştırmacılar KF'nin duygudurumunu desteklememesini katılımcıların başlangıçta depresyon ve anksiyete belirtileri göstermemesi (HADS <11) ile açıklamıştır. Bunun yanı sıra, bitter ve beyaz çikolatanın ayırt edilebilmesi nedeniyle bu çalışma çift körlemesine bir çalışma değildir. Dolayısıyla plasebo etkisinin sonuçları etkilemiş olabileceği dikkate alınmalıdır. Ayrıca bitter ve beyaz çikolata içinde farklı miktarda bulunan kafein ve teobromin karıştırıcı değişken olarak KF'nin etkilerini maskeleyiş olabilir.

Ibero-Baraibar ve diğerleri (2016) düşük kalorili diyet uygulayan aşırı kilolu veya obez katılımcılarda, KF alımının dopaminerjik aktivite ve duygudurum üzerindeki etkilerini incelemiştir. Yaş ortalaması 57 olan katılımcıların yarısı 4 hafta boyunca düşük kalorili beslenirken, diğer katılımcılar aynı diyeti kakao takviyesi (645 mg KF ve 140 mg teobromin) alarak uygulamıştır. Depres-

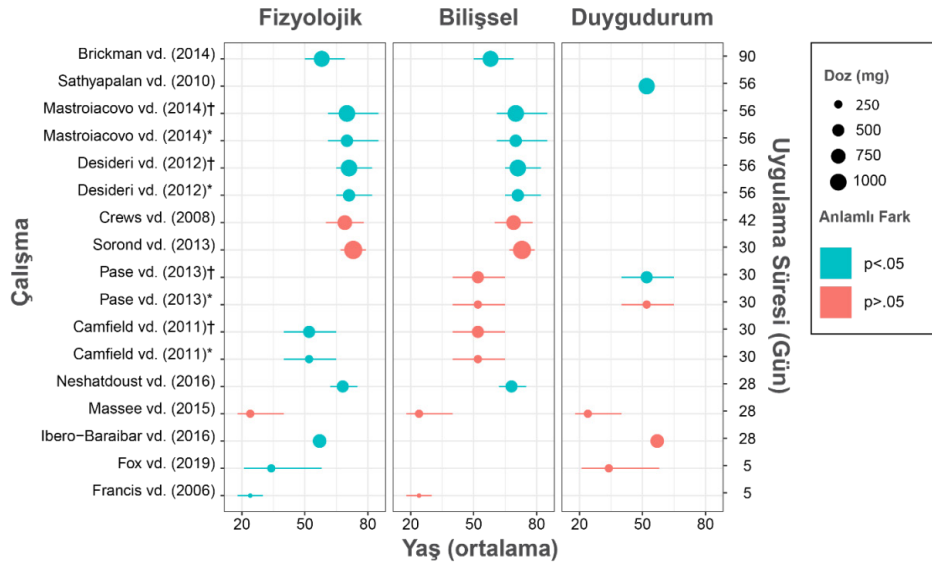
yon ve anksiyete semptomları sırasıyla Beck Depresyon Envanteri (Beck vd., 1988) ve Durumluk-Süreklilik Kaygı Envanteri (Spielberger vd., 1969) ile değerlendirilmiştir. Ayrıca kan numunesi alınıp plazma içindeki dopamin, monoamin oksidaz ve homovanilik asit değerleri analiz edilmiştir. Dört haftanın sonunda kontrol ve deney grubundaki katılımcıların yalnızca depresyon semptomları önemli ölçüde azalmakla birlikte, iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Buna karşılık, duygudurumdan sorumlu dopaminerjik aktiviteyle pozitif ilişkili olduğu bilinen homovanilik asit seviyesi deney grubundaki katılımcılarda önemli ölçüde artmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri fizyolojik bulguların içgözleme dayalı anket sonuçlarından daha nesnel bir parametre olduğunu iddia etmiştir. Fakat aynı zamanda her iki grupta depresyon semptomlarının kilo kaybına bağlı olarak azalmış olabileceği belirtilmiştir.

Sathyapalan ve diğerleri (2010) çapraz desen çalışmalarında flavanol bakımından zengin çikolata tüketiminin kronik yorgunluk sendromu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Kronik yorgunluk sendromu, kişilerin yeterli miktarda dinlenmesine rağmen fiziksel ve zihinsel olarak sürekli yorgun hissettiği, depresyon ve kas ağrısı gibi psikolojik ve fiziksel bir dizi semptomun eşlik ettiği ve yaşam kalitesini ciddi anlamda olumsuz etkileyen bir rahatsızlıktır (Joyce vd., 1997). Chalder Yorgunluk Ölçeğinde (Chalder Fatigue Scale) (Chalder vd., 1993) 11 üzerinden en az 10 puan alan katılımcılara sekiz hafta boyunca 950 mg (KF koşulu) ya da 10 mg (plasebo koşulu) flavanol içeren çikolata verilmiştir. İki haftalık arınma sürecinden sonra ilk aşamada KF alan katılımcılara plasebo, plasebo alan katılımcılara da KF verilerek deneysel değişimlemenin ikinci aşaması tamamlanmıştır. KF'nin kronik yorgunluk sendromu olan katılımcıların deneyimledikleri semptomlar üzerindeki etkileri her iki aşamanın başlangıcında ve sonunda çeşitli özbeğitirim ölçekleri verilerek değerlendirilmiştir. Katılımcıların KF aldıkları 8 haftanın sonunda Chalder Yorgunluk Ölçeği skoru anlamlı derecede düşmüştür. Başka bir ifadeyle, KF alımı zihinsel ve fiziksel yorgunluk semptomlarının hafiflemesine sağlamıştır. Genel yaşam kalitesinin değerlendirildiği Londra Engellilik Ölçeği (London Handicap Scale) (Harwood vd., 1994) ile depresyon ve kaygı semptomlarının ölçüldüğü Hastane Anksiyete ve Depresyon Ölçeğinde de benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Katılımcılar KF aldıkları sekiz haftanın sonunda sağlıkla ilgili yaşam kalitelerini daha olumlu değerlendirmiş; depresyon ve kaygı semptomlarının azaldığını rapor etmiştir. Fakat örneklem büyüklüğünün kısıtlı olması (n:10) ve yalnızca içgözlem tekniği kullanılması nedeniyle bu araştırmanın sonuçları titizlikle ele alınmalıdır. Benzer bir çalışma yeterli sayıda katılımcıyla yapılarak daha güvenilir sonuçlar elde edilebilir.

Pase ve diğerleri (2013) çalışmalarında yer alan sağlıklı katılımcılara 30 gün boyunca KF içeren (250 mg ya da 500 mg) ya da KF içermeyen kakao içeceği vererek bu maddenin duyguduruma olan subkronik etkilerini incelemiştir. Duygudurum, öz-beğitirim ölçeği olan Bond ve Lader Görsel Analog Ölçeği (Bond ve Lader, 1974) kullanılarak değerlendirilmiştir. Ölçek sakin-heyecanlı, gergin-rahatsız, halsiz-enerjik gibi birbirine zıt anlamlı olan 16 duygu sıfatı çiftlerinden oluşur. Katılımcı o anda yaşadığı duyguyu her bir ucunda karşıt anlamlı sıfatların yer aldığı bir çizgi üzerinde işaretleyerek bildirir. Değerlendirme sakinlik (calmness), hoşnutsuzluk (contentedness) ve tetiklilik (alertness) boyutlarında yapılır. Yüksek doz KF alan katılımcılar düşük doz ya da plasebo alan katılımcılara göre daha sakin ve hoşnut olduklarını bildirmiştir. KF'nin duygudurum ve anksiyete üzerindeki olumlu etkilerinin kısmen, GABA_A reseptörlerinin benzodiazepin bağlanma bölgesine bağlanan polifenollerin düzenleyici rol oynamasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hanrahan vd., 2011; Medina vd., 1997). Benzodiazepinler, anksiyolitik (kaygı giderici) özellikler gösteren ilaçlardır ve anksiyete bozukluğu tedavisinde kullanılmaktadır (Carlson, 2013). Yeşil çayda bulunan polifenollerin GABA reseptörlerinde düzenleyici rol oynayarak anksiyolitik etkiler gösterdiği bulunmuştur (Vignes vd., 2006). Akut etkilerin incelendiği bir çalışmada kafein ve flavanol alan katılımcılar, yalnızca kafein alan katılımcıların aksine, uyguladıkları testin sonunda anksiyete seviyesinin azaldığını bildirmiştir (Booalani, 2017). Aktarılan bu çalışmalar KF'nin GABA reseptörleri üzerinde agonist etki göstererek duygudurumunu desteklediğine işaret eden kanıtlar sunmuştur.

Sonuç

Son yıllarda polifenol antioksidanlara bağlı KF'nin bilişsel işlevler ve duygudurumuna olan etkilerini inceleyen seçkisiz kontrollü çalışmalar yürütülmüştür. Flavanol alımının NO sentezi, endotel kaynaklı damar genişlemesi, çevresel ve merkezi kan akımı, beyin perfüzyonu, insülin duyarlılığı üzerindeki fizyolojik etkilerini ele alan çalışmalar yeterli düzeyde tekrarlanmış ve tutarlı sonuçlara ulaşılmıştır. Fakat bilişsel işlevler ve duygudurumun incelendiği çalışmalarda elde edilen bulgular, fizyolojik etkilerin aksine oldukça farklılaşmaktadır. Bahsedilen çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşılmasının nedenleri metodolojik farklılıklara atfedilmiştir. Bireysel farklılıkların kontrol altına alınıp alınmadığı araştırma deseni (çapraz ve paralel), örneklem seçimi, uygulanan flavanol miktarı ve içeriği (örn. epikateşin ve prosiyanidin), plasebo etkisinin ve diğer maddelerin kontrol altına alınıp alınmaması gibi faktörlerin bilişsel performans ve duyguduruma dair bulguların farklılaşmasına neden



Şekil 1. Uzun Süreli Kakao Flavanollerinin Alımının Yaşa, Doz Miktarına ve Uygulama Süresine Bağlı Olarak Fizyolojik İşlevler, Bilişsel İşlevler ve Duygudurum Üzerindeki Etkileri

X aksisi yaşı, Y aksisi ise çalışmaların listesini ve uygulama süresini (gün) gösterir. Yatay çizgiler araştırmada yer alan katılımcıların yaş aralığını, noktaların konumu yaş ortalamasını, noktaların büyüklüğü ise dozu gösterir. Mavi renk çalışmaların sonucunda yapılan testlerden en az birinde uzun süreli KF alımının istatistiksel olarak anlamlı ($p < .05$) olduğu çalışmaları işaret ederken, kırmızı renk uzun süreli kakao flavanollerinin alımının test edilen değişkene etki etmediğini ($p > .05$) işaret eder. Her bir çalışmada, uygulanan kontrol/plasebo koşulu (0-48 mg arası KF) referans alınarak karşılaştırma yapılmıştır. Her bir çalışmadaki flavanol koşulu ile kontrol/plasebo koşulu (şekilde gösterilmemiştir) arasındaki karşılaştırma temel alınarak Şekil 1 hazırlanmıştır. İki farklı KF dozunun uygulandığı çalışmalar ayrı çalışmalar olarak gösterilmiştir. İki farklı KF dozunun uygulandığı çalışmalarda, † işareti yüksek doz KF'yi, * işareti ise düşük doz KF'yi temsil eder.

olduğu söylenebilir. KF alımı sonrası ortaya çıkan fizyolojik değişimlerin bilişsel işlevler ve duygudurumuna tutarlı bir şekilde yansımamasının bir diğer olası nedeni ise flavanole hassas testlerin uygulanmaması olabilir. Başka bir ifadeyle, bilişsel işlevler ve duygudurumun değerlendirildiği test bataryaları ve öz bildirim ölçekleri, fizyolojik ölçüm araçlarının aksine, KF alımının potansiyel etkilerini ortaya koyabilecek kadar hassas olmayaabilir. Buna ek olarak bahsedilen çalışmaların en önemli sınırlılıklarından birisi gözlemlenen bulguların yalnızca flavanole atfedilemiyor olmasıdır. Her ne kadar deneysel çalışmaların büyük bir kısmında flavanol dışındaki diğer psikoaktif maddeler kontrol altına alınmış olsa da, sinerjik ya da antagonistik etkinin¹⁹ araştırma sonuçları üzerinde karıştırıcı değişken olarak rol oynamış olabileceği göz ardı edilmemelidir. Bahsedilen sınırlılığın üstesinden gelebilmenin pratik bir yolu, Massee ve diğerlerinin (2015) çalışmalarında yaptığı gibi flavanolu diğer maddelerden izole bir şekilde tablet formunda uygulamaktır.

KF alımının fizyoloji, bilişsel işlevler ve duygudurumuna olan etkilerini, uygulama süresi ve doz miktarı özelinde inceleyen herhangi bir çalışma yer almamaktadır. Buna rağmen bu yazıda incelenen çalışmalara bakıldığında fizyolojik etkilerin düşük doz alımlarında ve kısa süre uygulanmasıyla bile görülmeye başlandığı söylenebilir. Ancak fizyolojik değişimin bilişsel işlevlere ve duygudurumuna yansımaları genellikle daha uzun süre KF alımıyla gerçekleşmekte ve uygulama süresi uzadıkça pozitif etkilerin gözlemlenme sıklığı da artmaktadır. Dozdan bağımsız olarak, daha uzun süre KF alımının söz konusu değişkenler üzerinde pozitif etkileri yordadığını gösteren bir örüntü mevcuttur. Şekil 1'de görünen bu örüntü, uygulama süresinin en az sekiz hafta olduğu çalışmalarda KF alımının bilişsel işlevleri ve duygudurumunu desteklediği yönündedir.

Uzun süreli KF alımının bilişsel performansa olan etkilerine odaklanan 10 çalışmanın dördünde bu maddenin bilişsel performansı desteklediği gösterilmiştir (Tab-

19 En az iki farklı biyoaktif maddenin birlikte alımı sonucu ortaya çıkan etkinin, bu maddelerin tek başlarına alındığında ortaya çıkan etkilerin toplamından daha güçlü olması sinerjik etki; daha zayıf olması ise antagonistik etki olarak adlandırılır.

lo 1). Pozitif etkilerin gözlemlendiği çalışmalarda flavanol göreceli olarak daha uzun süre (8-12 hafta), etkilerin ortaya çıkmadığı diğer altı çalışmada ise daha kısa süre (5-42 gün) uygulanmıştır. Bu tabloya uymayan tek istisna, 28 gün boyunca 494 mg KF alan yaşlı katılımcıların bu sürenin sonunda bilişsel performans ve serum BDNF seviyesinde artışın gözlemlendiği çalışma (Neshatdoust vd., 2016) olmuştur. KF alımının duygudurum üzerindeki rolünün incelendiği çalışmalar, uygulama süresi ekseninde ele alındığında da benzer bir örtüntü ortaya çıkmaktadır. Bu yazıda incelenen beş çalışmanın ikisinde KF'nin duygudurum üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Pozitif etkilerin gözlemlendiği iki çalışmada KF takviyesi nispeten daha uzun süre (30 gün-8 hafta) uygulanırken; etkilerin ortaya çıkmadığı diğer çalışmalarda KF daha kısa süre (5-28 gün) uygulanmıştır (Şekil 1).

Uzun süreli KF alımının bilişsel işlevlere olan etkilerinde flavanol miktarının da önemli bir belirleyici olduğu söylenebilir. İncelenen çalışmalarda doz miktarı arttıkça pozitif etkilerin gözlemlenme sıklığı da artmaktadır. Plasebo ile karşılaştırıldığında 510 mg'den daha düşük miktarda flavanol içeren kakao takviyesinin uygulandığı yedi çalışmanın yalnızca birinde pozitif etkiler gözlemlenirken; bu miktarın üzerinde uygulandığı yedi çalışmanın beşinde pozitif etkiler gözlemlenmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan KF miktarlarının 172-1218 mg aralığında olduğu dikkate alınmalıdır. Dolayısıyla KF ile fizyolojik işlevler arasındaki doz-yanıt ilişkisinin incelendiği bir çalışma, KF tüketiminden optimum faydanın sağlanması bakımından gereklidir.

Uygulama süresi ve doz miktarı dışında dikkate alınması gereken bir diğer önemli unsur ise örneklem seçimidir. Bilişsel işlevlerin ve/veya duygudurumun değerlendirildiği 13 çalışmanın yalnızca ikisinde (Francis vd., 2006; Masseur vd., 2015) 40 yaşın altındaki yetişkinler yer almıştır. Yaşça daha büyük bireylerin örneklem olarak alınmasının gerekçelerinden biri bilişsel gerileme ve buna neden olan patolojilerin (örn. düşük BDNF seviyesi ve kalp damar rahatsızlıkları) özellikle ileri yaşlarda ortaya çıkmasıdır. Buna bağlı olarak, fizyolojik etkileri kanıtlanmış olan KF'nin yaşlılar için daha fazla fayda sağlayabileceği öngörülmüştür (örn. Field vd., 2011). Genç katılımcılarla karşılaştırıldığında 821 mg KF alımının sistolik/diastolik kan basıncı gibi kardiyovasküler ölçümlere olan olumlu etkilerinin yaşlılarda daha büyük olduğu gösterilmiştir (Fisher ve Hollenberg, 2006). Yaşları 35 ile 90 arasında değişen katılımcıların yer aldığı klinik çalışmada (Neshatdoust vd., 2016), 65 yaşın altındaki bireylerde yaş ile serum BDNF seviyesi arasında pozitif korelasyon, 65 yaşın üstündekilerde bu iki değişken arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Ayrıca, KF alımının serum BDNF seviyesi ve genel bilişsel performansta kayda değer bir artışa neden olması,

yaşlıların KF'den daha fazla istifade edebileceğini destekleyen bir diğer çalışma bulgusudur. Uzun süreli KF tüketiminin bilişsel işlevlere etkisini yaş ekseninde test eden ampirik çalışma olmamasına rağmen, yaşlıların daha fazla faydalandığına dair bir trend mevcuttur (Şekil 1). Yine de düzenli KF tüketiminin bilişsel işlevlere ve duygudurumuna etkilerinin yaşa bağlı değişimlerini anlayabilmek için bu iki değişken arasındaki ilişkiyi inceleyen deneysel bir çalışmanın yapılması elzemdir. *CoCoA* adlı çalışma ekibi sadece örneklemin farklı olduğu iki çalışma (Desideri vd., 2012; Mastroiacovo vd., 2014) yürüterek bunun başarılı bir örneğini gerçekleştirmiştir. KF tüketimi, özellikle insülin direncinin azalmasına bağlı olarak, sağlıklı yaşlıların ve HBB tanısı alan bireylerin bilişsel işlevlerine katkıda bulunmuştur. Fakat sağlıklı yaşlılar ile kıyaslandığında, değişen insülin direncinin bilişsel performansa olan katkısının HBB tanısı alanlarda 2 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Böylelikle araştırmacılar hem çalışma belleği, zihinsel esneklik ve dikkat gibi bilişsel işlevlerin değerlendirildiği testlerde insülin ve glikoz metabolizmasının önemini, hem de KF alımının sağlıklı ve patolojik yaşlanmaya olan olumlu etkilerinin büyüklüğünü net bir şekilde göstermiştir.

Sonuç olarak günümüze kadar yapılan seçkisiz kontrollü çalışmalardan elde edilen bulgular doğrultusunda, uzun süreli KF alımının nöral koruma sağlama-sı, nörojenez, sinaptojenez ve anjiyojenezi tetikleme-si, kardiyovasküler ve metabolik işlevler üzerindeki pozitif etkileri aracılığıyla çeşitli yaş gruplarında ve klinik popülasyonda bilişsel işlevleri ve duygudurumunu desteklediği söylenebilir. KF'nin etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için davranışsal ve fizyolojik ölçümlerin yanı sıra beyin görüntüleme tekniklerinin de içerdiği çalışmalara gelecekte daha fazla ağırlık verilmelidir. Yalnızca flavanolun etkilerinin gözlemlenebilmesi için kakao-nun diğer bileşenlerinin eşitlendiği plasebo kontrollü çalışmalar yapılması gerekmektedir. Ayrıca hem klinik hem de genel popülasyonda flavanolun bilişsel işlevlere ve duygudurumuna olan optimum katkısının sağlanması için doz-yanıt eğrisinin ve flavanol içeriğinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Alsop, D. C., & Detre, J. A. (1998). Multisection cerebral blood flow MR imaging with continuous arterial spin labeling. *Radiology*, *208*(2), 410-416. <https://doi.org/10.1148/radiology.208.2.9680569>
- Bathina, S., & Das, U. N. (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science: AMS*, *11*(6), 1164. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.56342>
- Beck, A. T., Steer, R. A., & Carbin, M. G. (1988). Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation. *Clinical Psychology Review*, *8*(1), 77-100. [https://doi.org/10.1016/0272-7358\(88\)90050-5](https://doi.org/10.1016/0272-7358(88)90050-5)
- Benton, A. L., (1974) *Revised visual retention test: Clinical and experimental applications* (4th ed.). New York: Psychological Corporation.
- Binder, D. K., & Scharfman, H. E. (2004). Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors (Chur, Switzerland)*, *22*(3), 123. <https://doi.org/10.1080/08977190410001723308>
- Boolani, A., Lindheimer, J. B., Loy, B. D., Crozier, S., & O'Connor, P. J. (2017). Acute effects of brewed cocoa consumption on attention, motivation to perform cognitive work and feelings of anxiety, energy and fatigue: a randomized, placebo-controlled crossover experiment. *BMC Nutrition*, *3*(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40795-016-0117-z>
- Bond, A., & Lader, M. (1974). The use of analogue scales in rating subjective feelings. *British Journal of Medical Psychology*, *47*(3), 211-218. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8341.1974.tb02285.x>
- Borkowski, J. G., Benton, A. L., & Spreen, O. (1967). Word fluency and brain damage. *Neuropsychologia*, *5*(2), 135-140. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(67\)90015-2](https://doi.org/10.1016/0028-3932(67)90015-2)
- Brickman, A. M., Khan, U. A., Provenzano, F. A., Yeung, L. K., Suzuki, W., Schroeter, H., ... & Small, S. A. (2014). Enhancing dentate gyrus function with dietary flavanols improves cognition in older adults. *Nature Neuroscience*, *17*(12), 1798. <https://doi.org/10.1038/nn.3850>
- Buschke, H., & Fuld, P. A. (1974). Evaluating storage, retention, and retrieval in disordered memory and learning. *Neurology*, *24*(11), 1019-1019. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000398283.10171.75>
- Calver, A., Collier, J., & Vallance, P. (1992). Nitric oxide and blood vessels: physiological role and clinical implications. *Biochemical Education*, *20*(3), 130-135. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(92\)90048-q](https://doi.org/10.1016/0307-4412(92)90048-q)
- Camfield, D. A., Scholey, A., Pipingas, A., Silberstein, R., Kras, M., Nolidin, K., ... & Stough, C. (2012). Steady state visually evoked potential (SSVEP) topography changes associated with cocoa flavanol consumption. *Physiology & Behavior*, *105*(4), 948-957. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.11.013>
- Cangoz, B., Karakoc, E., & Selekler, K. (2009). Trail Making Test: Normative data for Turkish elderly population by age, sex and education. *Journal of the Neurological Sciences*, *283*(1-2), 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.02.313>
- Carlson, N. R. (2013). *Foundations of Behavioral Neuroscience*. Pearson Education.
- Chalder, T., Berelowitz, G., Pawlikowska, T., Watts, L., Wessely, S., Wright, D., & Wallace, E. P. (1993). Development of a fatigue scale. *Journal of Psychosomatic Research*, *37*(2), 147-153. [https://doi.org/10.1016/0022-3999\(93\)90081-p](https://doi.org/10.1016/0022-3999(93)90081-p)
- Corti, R., Flammer, A. J., Hollenberg, N. K., & Lüscher, T. F. (2009). Cocoa and cardiovascular health. *Circulation*, *119*(10), 1433-1441. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.827022>
- Crews Jr, W. D., Harrison, D. W., & Wright, J. W. (2008). A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of the effects of dark chocolate and cocoa on variables associated with neuropsychological functioning and cardiovascular health: clinical findings from a sample of healthy, cognitively intact older adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *87*(4), 872-880. <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.4.872>
- Desideri, G., Kwik-Urbe, C., Grassi, D., Necozone, S., Ghiadoni, L., Mastroiaco, D., Raffaele, A., Ferri, L., Bocale, R., Lechiara, M. C., Marini, C., & Ferri, C. (2012). Benefits in cognitive function, blood pressure, and insulin resistance through cocoa flavanol consumption in elderly subjects with mild cognitive impairment: the Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) study. *Hypertension*, *60* (3), 794-801. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.112.193060>
- Diplock, A. (1998). Healthy life styles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, *59*. <https://doi.org/10.1177/108201329900500511>
- Field, D. T., Williams, C. M., & Butler, L. T. (2011). Consumption of cocoa flavanols results in an acute improvement in visual and cognitive functions. *Physiology & Behavior*, *103*(3-4), 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.013>
- Fisher, N. D., Hughes, M., Gerhard-Herman, M., & Hollenberg, N. K. (2003). Flavanol-rich cocoa

- induces nitric-oxide-dependent vasodilation in healthy humans. *Journal of Hypertension*, 21(12), 2281-2286. <https://doi.org/10.1097/00004872-200312000-00016>
- Fisher, N. D., & Hollenberg, N. K. (2006). Aging and vascular responses to flavanol-rich cocoa. *Journal of Hypertension*, 24(8), 1575-1580. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000239293.40507.2a>
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 189-198. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1166\(199805\)13:5<285::aid-gps753>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1166(199805)13:5<285::aid-gps753>3.0.co;2-v)
- Fox, M., Meyer-Gerspach, A. C., Wendebourg, M. J., Gruber, M., Heinrich, H., Sauter, M., Woelnerhansen, B., Koeberle, D., & Jüngling, F. (2019). Effect of cocoa on the brain and gut in healthy subjects: A randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 121(6), 654-661. <https://doi.org/10.1017/s0007114518003689>
- Francis, S. T., Head, K., Morris, P. G., & Macdonald, I. A. (2006). The effect of flavanol-rich cocoa on the fMRI response to a cognitive task in healthy young people. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 47, S215-S220. <https://doi.org/10.1097/00005344-200606001-00018>
- Furchgott, R. F., & Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373-376. <https://doi.org/10.1038/288373a0>
- Garthwaite, J. (1991). Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends in Neurosciences*, 14(2), 60-67. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(91\)90022-m](https://doi.org/10.1016/0166-2236(91)90022-m)
- Grassi, D., Lippi, C., Necozione, S., Desideri, G., & Ferri, C. (2005). Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(3), 611-614. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.3.611>
- Grassi, D., Succi, V., Tempesta, D., Ferri, C., De Gennaro, L., Desideri, G., & Ferrara, M. (2016). Flavanol-rich chocolate acutely improves arterial function and working memory performance counteracting the effects of sleep deprivation in healthy individuals. *Journal of Hypertension*, 34(7), 1298-1308. <https://doi.org/10.1097/hjh.0000000000000926>
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S., & Prior, R. L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 613-617. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.613>
- Hanrahan, J. R., Chebib, M., & Johnston, G. A. (2011). Flavonoid modulation of GABAA receptors. *British Journal of Pharmacology*, 163(2), 234-245. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01228.x>
- Harwood, R. H., Rogers, A., Dickinson, E., & Ebrahim, S. (1994). Measuring handicap: the London Handicap Scale, a new outcome measure for chronic disease. *Quality and Safety in Health Care*, 3(1), 11-16. <https://doi.org/10.1136/qshc.3.1.11>
- Haskell-Ramsay, C. F., Schmitt, J., & Actis-Goretta, L. (2018). The impact of epicatechin on human cognition: The role of cerebral blood flow. *Nutrients*, 10(8), 986. <https://doi.org/10.3390/nu10080986>
- Hayes, M. H. S., and Patterson, D. G. (1921). Experimental development of the graphic rating method. *Psychological Bulletin*, 18, 98-99.
- Heiss, C., Dejam, A., Kleinbongard, P., Schewe, T., Sies, H., & Kelm, M. (2003). Vascular effects of cocoa-rich in flavan-3-ols. *Jama*, 290(8), 1030-1031. <https://doi.org/10.1001/jama.290.8.1030>
- Hurst, W. J., Krake, S. H., Bergmeier, S. C., Payne, M. J., Miller, K. B., & Stuart, D. A. (2011). Impact of fermentation, drying, roasting and Dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 53. <https://doi.org/10.1186/1752-153x-5-53>
- Ibero-Baraibar, I., Perez-Cornago, A., Ramirez, M. J., Martínez, J. A., & Zulet, M. A. (2015). An increase in plasma homovanillic acid with cocoa extract consumption is associated with the alleviation of depressive symptoms in overweight or obese adults on an energy restricted diet in a randomized controlled trial. *The Journal of Nutrition*, 146(4), 897S-904S. <https://doi.org/10.3945/jn.115.222828>
- Joyce, J., Hotopf, M., & Wessely, S. (1997). The prognosis of chronic fatigue and chronic fatigue syndrome: a systematic review. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*, 90(3), 223-233. <https://doi.org/10.1093/qjmed/90.3.223>
- Karabay, A., Saija, J. D., Field, D. T., & Akyürek, E. G. (2018). The acute effects of cocoa flavanols on temporal and spatial attention. *Psychopharmacology*, 235(5), 1497-1511. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-4861-4>
- Karim, M., McCormick, K., & Kappagoda, C. T. (2000). Effects of cocoa extracts on endothelium-dependent relaxation. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2105S-2108S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2105S>

- Latif, R. (2013). Chocolate/cocoa and human health: a review. *Neth J Med*, *71*(2), 63-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- Lazarus, S. A., Hammerstone, J. F., & Schmitz, H. H. (1999). Chocolate contains additional flavonoids not found in tea. *The Lancet*, *354*(9192), 1825. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)70599-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)70599-7)
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(25), 7292-7295. <https://doi.org/10.1021/jf0344385>
- Lutski, M., Weinstein, G., Goldbourt, U., & Tanne, D. (2017). Insulin resistance and future cognitive performance and cognitive decline in elderly patients with cardiovascular disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *57*(2), 633-643. <https://doi.org/10.3233/jad-161016>
- Ma, L., Wang, J., & Li, Y. (2015). Insulin resistance and cognitive dysfunction. *Clinica Chimica Acta*, *444*, 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.01.027>
- Magrone, T., Russo, M. A., & Jirillo, E. (2017). Cocoa and dark chocolate polyphenols: from biology to clinical applications. *Frontiers in Immunology*, *8*, 677. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00677>
- Massee, L. A., Ried, K., Pase, M., Travica, N., Yoganathan, J., Scholey, A., Macpherson, H., Kennedy, G., Sali, A., & Pipingas, A. (2015). The acute and sub-chronic effects of cocoa flavanols on mood, cognitive and cardiovascular health in young healthy adults: a randomized, controlled trial. *Frontiers in Pharmacology*, *6*, 93. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00093>
- Mastroiacovo, D., Kwik-Uribe, C., Grassi, D., Necozione, S., Raffaele, A., Pistacchio, L., Righetti, R., Bocale, R., Lechiara, M.C., Marini, C., Ferri, C., & Desideri, G. (2014). Cocoa flavanol consumption improves cognitive function, blood pressure control, and metabolic profile in elderly subjects: the Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) Study—a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *101*(3), 538-548. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.092189>
- Medina, J. H., Viola, H., Wolfman, C., Marder, M., Wasowski, C., Calvo, D., & Paladini, A. C. (1997). Overview—flavonoids: a new family of benzodiazepine receptor ligands. *Neurochemical Research*, *22*(4), 419-425. <https://doi.org/10.1023/a:1027303609517>
- Moncada, S., & Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *New England Journal of Medicine*, *329*(27), 2002-2012. <https://doi.org/10.1056/nejm199312303292706>
- Morris, N., & Jones, D. M. (1990). Memory updating in working memory: The role of the central executive. *British Journal of Psychology*, *81*(2), 111-121. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1990.tb02349.x>
- Morris, R. G., & Baddeley, A. D. (1988). Primary and working memory functioning in Alzheimer-type dementia. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, *10*(2), 279-296. <https://doi.org/10.1080/01688638808408242>
- Nehlig, A. (2013). The neuroprotective effects of cocoa flavanol and its influence on cognitive performance. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *75*(3), 716-727. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04378.x>
- Neshatdoust, S., Saunders, C., Castle, S. M., Vauzour, D., Williams, C., Butler, L., Lovegrove, J.A., & Spencer, J. P. (2016). High-flavonoid intake induces cognitive improvements linked to changes in serum brain-derived neurotrophic factor: two randomised, controlled trials. *Nutrition and Healthy Aging*, *4*(1), 81-93. <https://doi.org/10.3233/nha-1615>
- Park, D. C., & Reuter-Lorenz, P. (2009). The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. *Annual Review of Psychology*, *60*, 173-196. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.59.103006.093656>
- Partington, J. E., & Leiter, R. G. (1949). Partington's pathway test. *The Psychological Service Center Bulletin*, *1*, 9-20. <https://doi.org/10.1037/t66320-000>
- Pase, M. P., Scholey, A. B., Pipingas, A., Kras, M., Nolidin, K., Gibbs, A., Wesnes, K., Stough, C. (2013). Cocoa polyphenols enhance positive mood states but not cognitive performance: a randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Psychopharmacology*, *27*(5), 451-458. <https://doi.org/10.1177/0269881112473791>
- Payne, M. J., Hurst, W. J., Miller, K. B., Rank, C., & Stuart, D. A. (2010). Impact of fermentation, drying, roasting, and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(19), 10518-10527. <https://doi.org/10.1021/jf102391q>
- Petcharunpaisan, S., Ramalho, J., & Castillo, M. (2010). Arterial spin labeling in neuroimaging. *World Journal of Radiology*, *2*(10), 384. <https://doi.org/10.4329/wjr.v2.i10.384>
- Petersen, R. C., Stevens, J. C., Ganguli, M., Tangalos, E. G., Cummings, J. L., & DeKosky, S. T. (2001). Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of

- the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56(9), 1133-1142. <https://doi.org/10.1212/wnl6.9.1133>
- Rajaram, S., Jones, J., & Lee, G. J. (2019). Plant-based dietary patterns, plant foods, and age-related cognitive decline. *Advances in Nutrition*, 10 (Supplement 4), S422-S436. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz081>
- Rees, D. D., Palmer, R. M., & Moncada, S. (1989). Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(9), 3375-3378. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.9.3375>
- Rogers, R. D., & Monsell, S. (1995). Costs of a predictable switch between simple cognitive tasks. *Journal of Experimental Psychology: General*, 124(2), 207. <https://doi.org/10.1037/0096-3445.124.2.207>
- Sackeim, H. A., Prohovnik, I., Moeller, J. R., Brown, R. P., Apter, S., Prudic, J., Devanand, D. P., & Mukherjee, S. (1990). Regional cerebral blood flow in mood disorders: I. Comparison of major depressives and normal controls at rest. *Archives of General Psychiatry*, 47(1), 60-70. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1990.01810130062009>
- Sathyapalan, T., Beckett, S., Rigby, A. S., Mellor, D. D., & Atkin, S. L. (2010). High cocoa polyphenol rich chocolate may reduce the burden of the symptoms in chronic fatigue syndrome. *Nutrition Journal*, 9(1), 55. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-55>
- Scholey, A. B., French, S. J., Morris, P. J., Kennedy, D. O., Milne, A. L., & Haskell, C. F. (2010). Consumption of cocoa flavanols results in acute improvements in mood and cognitive performance during sustained mental effort. *Journal of Psychopharmacology*, 24(10), 1505-1514. <https://doi.org/10.1177/0269881109106923>
- Sleiman, S. F., Henry, J., Al-Haddad, R., El Hayek, L., Abou Haidar, E., Stringer, T., Ulja, D., Karuppagounder, S. S., Holson, E. B., Ratan, R. R., Ninan, I., & Chao, M. V. (2016). Exercise promotes the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) through the action of the ketone body β -hydroxybutyrate. *Elife*, 5, e15092. <https://doi.org/10.7554/elife.15092>
- Smith, D. F. (2013). Benefits of flavanol-rich cocoa-derived products for mental well-being: A review. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.09.002>
- Socci, V., Tempesta, D., Desideri, G., De Gennaro, L., & Ferrara, M. (2017). Enhancing human cognition with cocoa flavonoids. *Frontiers in Nutrition*, 4, 19. <https://doi.org/10.3389/fnut.2017.00019>
- Sorond, F. A., Hurwitz, S., Salat, D. H., Greve, D. N., & Fisher, N. D. (2013). Neurovascular coupling, cerebral white matter integrity, and response to cocoa in older people. *Neurology*, 81(10), 904-909. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e3182a351aa>
- Spielberger, C. D., Gorsuch, R. L., Lushene, R. E., Vagg, P. R., & Jacobs, G. A. (1983). State-Trait Anxiety Inventory for Adults: Sampler set: Manual. *Test, Scoring Key*. <https://doi.org/10.1037/t06496-000>
- Stroop, J. R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology: General*, 18, 643-662. <https://doi.org/10.1037/h0054651>
- Tuenter, E., Foubert, K., & Pieters, L. (2018). Mood components in cocoa and chocolate: the mood pyramid. *Planta Medica*, 84(12/13), 839-844. <https://doi.org/10.1055/a-0588-5534>
- Türkeş, N., Can, H., Kurt, M., & Dikeç, B. E. (2015). İz Sürme Testi'nin 20-49 yaş aralığında Türkiye için norm belirleme çalışması. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 26(3), 189-196.
- van Praag, H., Lucero, M. J., Yeo, G. W., Stecker, K., Heivand, N., Zhao, C., Yip, E., Afanador, M., Schroeter, H., Hammerstone, J., & Gage, F. H. (2007). Plant-derived flavanol (-) epicatechin enhances angiogenesis and retention of spatial memory in mice. *Journal of Neuroscience*, 27(22), 5869-5878. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0914-07.2007>
- Velichkovskaya, B. B., Tatarinova, D. V., Khlebnikovaa, A. A., Roshchinab, I. F., Seleznevab, N. D., & Gavrilovab, S. I. (2020). Task Switching in Normal Aging and Mild Cognitive Impairment: A Diffusion Model Analysis of Reaction Times. *Psychology in Russia. State of the Art*, 13(2). <https://doi.org/10.11621/pir.2020.0208>
- Vignes, M., Maurice, T., Lanté, F., Nedjar, M., Thethi, K., Guiramand, J., & Récasens, M. (2006). Anxiolytic properties of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate (EGCG). *Brain Research*, 1110(1), 102-115. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384937-3.00117-8>
- Wylie, G., & Allport, A. (2000). Task switching and the measurement of "switch costs." *Psychological Research*, 63(3-4), 212-233. <https://doi.org/10.1007/s004269900003>
- Wechsler, D. (1997a). Administration and scoring manual for the Wechsler Adult Intelligence Scale-3rd Revision (WAIS-III). San Antonio: Psychological Corporation
- Wechsler, D. (1997b). Administration and scoring manual for the Wechsler Memory Scale-3rd Revision (WMS-III). San Antonio: Psychological Corporation

- Wesnes, K., Simpson, P. M., & Christmas, L. (1987). The assessment of human information processing abilities in psychopharmacology. *Human Psychopharmacology: Measures and Methods, 1*, 79-92.
- Westfall, S., & Pasinetti, G. M. (2019). The gut microbiota links dietary polyphenols with management of psychiatric mood disorders. *Frontiers in Neuroscience, 13*, 1196. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01196>
- Xu, Q., Langley, M., Kanthasamy, A. G., & Reddy, M. B. (2017). Epigallocatechin gallate has a neurorescue effect in a mouse model of Parkinson disease. *The Journal of Nutrition, 147*(10), 1926-1931. <https://doi.org/10.3945/jn.117.255034>
- Yang, Z. H., von Segesser, L., Bauer, E., Stulz, P., Turina, M., & Lüscher, T. F. (1991). Different activation of the endothelial L-arginine and cyclooxygenase pathway in the human internal mammary artery and saphenous vein. *Circulation Research, 68*(1), 52-60. <https://doi.org/10.1161/01.RES.68.1.52>
- Zigmond, A. S., & Snaithe, R. P. (1983). The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatrica Scandinavica, 67*(6), 361-370. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x>
- Zugravu, C., & Otelea, M. R. (2019). Dark chocolate: To eat or not to eat? A review. *Journal of AOAC International, 102*(5), 1388-1396. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-013>

Summary

The Effects of Long-Term Cocoa Flavanols Intake on Cognitive Functions and Mood, and the Physiological Mechanisms Underlying These Effects: A Literature Review

Oğuz Karataş¹

Uludağ University

Aytaç Karabay

University of Groningen

Tevfik Alıcı

Uludağ University

Flavanols are a subclass of flavonoids, a group of natural compounds found in plant-based foods. They are abundant in nutrients, including cocoa, grapes, apples, black and green teas (Gu et al., 2004). Cocoa has a special place as it contains the greatest amount of flavanols among other flavanol-containing nutrients (Lee et al., 2003). Over the last two decades, researchers from various disciplines investigated the health benefits of cocoa-derived products containing flavanols. For instance, cocoa flavanols (CF) intake was proven to reduce platelet aggregation, blood pressure, and insulin resistance (Corti et al., 2009). In this paper, studies examining the effects of long-term CF intake on cognitive functions and mood and the physiological mechanism underlying these effects are reviewed.

Physiological Effects of Cocoa Flavanols

CF contains monomeric flavanols –in the form of epicatechin and catechin– and oligomeric/polymeric flavanols known as procyanidin (Lazarus et al., 1999). Absorption of CF in the form of epicatechin readily occurs in the human digestive system, and its concentration reaches the greatest level in blood plasma 2-3 hours after ingestion (Nehlig, 2013). In an animal study, epicatechin and catechin molecules have crossed the blood-brain barrier (van Praag et al., 2007), accumulating in specific brain regions that are more vulnerable to the adverse effects of aging, such as the hippocampus, cerebellum, and striatum (Socci et al., 2017). Similarly, CF has been suggested to prevent cognitive decline via its neuroprotective properties (Nehlig, 2013). Moreover, there is empirical evidence that flavonoids have pharmacological activity on enzymes, receptors, and signaling pathways (Hanrahan et al., 2011). For example, CF intake enhances the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in memory-related brain structures and the blood serum (Neshatdoust et al., 2016; Socci et al.,

2017). BDNF deficiency in the hippocampus and substantia nigra is associated with Alzheimer's and Parkinson's diseases, respectively (Bathina & Das, 2015; Binder & Scharfman, 2004). Besides, low BDNF level is associated with depression and anxiety (Sleiman et al., 2016). Collective evidence suggests that CF consumption may improve cognitive functions and mood by increasing the BDNF level.

Together with its direct effects, CF has indirect effects on the brain and cognitive functions. An epidemiological study demonstrated that cardiovascular diseases are less common in Kuna Indians who consume cocoa products corresponding to an average of 900 mg CF per day (Corti et al., 2009). Cardiovascular risk factors play a role in the pathophysiology of disorders accompanied by various cognitive impairments, such as Alzheimer's disease and mild cognitive impairment (Grassi et al., 2016). Cerebral blood flow in which the neurons are supplemented with oxygen and glucose must be at a certain level for a normal functioning brain. Since CF ingestion causes flow-mediated dilation (Fisher et al., 2003) and increases cerebral blood flow (Francis et al., 2006), CF is thought to facilitate cognitive functions indirectly.

The Role of Nitric Oxide in the Physiological Effects of Cocoa Flavanols

Physiological effects of flavanols are associated with the synthesis of nitric oxide (NO) within blood vessels (Karim et al., 2000; Fisher et al., 2003; Heiss et al., 2003). Although NO has numerous biological functions, its vasodilatory effect and role as a retrograde neurotransmitter could explain the relationship between CF intake and improved cognitive functions (Karabay et al., 2018). Two recent studies showed that CF intake improves cognitive performance by reducing insulin resistance (Desideri et al., 2012; Mastroiacovo et al., 2014) which may be mediated by NO synthesis.

Address for Correspondence: ¹Res. Asst. Oğuz Karataş, Necmettin Erbakan University, Campus of Koycegiz, Faculty of Social Sciences and Humanities, Department of Psychology, Meram / Konya.
E-mail: oguzkrts@gmail.com

Effects of Long-Term Intake of Cocoa Flavanols on Cognitive Functions

In the so-called Cocoa, Cognition, and Aging (Co-CoA) studies, the effects of daily CF intake for eight weeks on cognitive functions were assessed both in older adults with mild cognitive impairment (Desideri et al., 2012) and cognitively intact senior subjects (Mastroiacovo et al., 2014). In both studies, high and low-dose CF intake compared to placebo enhanced working memory, mental flexibility, and processing speed measured by Trail Making Test A&B. Similar results were observed in the Verbal Fluency Task requiring verbal ability, selective attention, and response inhibition. Besides, insulin resistance and blood pressure decreased among subjects exposed to low and high CF administration. The improvement in cognitive functions was predominantly associated with reduced insulin resistance. Hence, these studies demonstrated that long-term CF intake supports cognitive functions by improving insulin sensitivity.

Brickman et al. (2014) investigated the chronic effect of CF consumption on memory performance and cerebral blood volume (CBV) in the dentate gyrus using fMRI. After three months of dietary intervention, older adults in the flavanol condition improved their performance in the ModBent test measuring pattern separation ability. The faster reaction time of 630 ms was found to correspond to an improvement in memory performance equivalent to about three decades of aging. Additionally, CF intake increased CBV in the dentate gyrus which was positively correlated with performance in ModBent. Although the physiological mechanism underlying this alteration in memory functions is not fully explored, the formation of new blood vessels (angiogenesis), the production of new neurons (neurogenesis), and the formation of synapses (synaptogenesis) in the dentate gyrus following CF consumption might have led to the observed outcomes.

Neshatdoust et al. (2016) examined the relationship between serum BDNF level and cognitive functions following 12 weeks of CF intervention. Participants consumed flavanol-rich and flavanol-poor (control) cocoa beverages with a 4-week washout between supplementation periods. The neuropsychological test battery administered includes tasks in which a wide range of cognitive functions are assessed, including executive function, attention, episodic memory, and processing speed. Serum BDNF level and global cognition score significantly increased only after CF intervention. The positive correlation between BDNF and cognition showed that CF intake enhances cognitive functions by improving BDNF level.

Contrary to the aforementioned studies, there is evidence that CF intake has no impact on cognition.

Francis et al. (2006) used fMRI to measure blood oxygenation level-dependent (BOLD) signal in response to task-switching test requiring switching between two sets of rules. Although BOLD signals increased in the anterior cingulate cortex, prefrontal cortex, and parietal cortex following five days of CF intake, no improvement was observed in the behavioral measures. It should be noted that there was no room for improvement in the task performance which may explain the lack of behavioral effects.

In another study, participants consuming a dark chocolate bar with a cup of cocoa beverage containing either 41 or 755 mg flavanols for six weeks completed a series of neuropsychological tests (Crews et al., 2008). Interestingly, they found no evidence that CF intake improves cognitive functions and cardiovascular health despite the high dose CF used. One possible reason for the null results is that cocoa products used in this experiment contain a meager amount of epicatechin (Haskell-Ramsay et al., 2018).

Massee et al. (2015) investigated the subchronic effect of CF on cognition by isolating flavanols from other cocoa components. Cognitive performance was evaluated using Swinburne University Computerized Cognitive Assessment Battery and Cognitive Demand Battery after participants took either active (250 mg CF) or placebo tablets (0 mg CF) daily for four weeks. However, the consumption of active tablets did not make a difference in overall cognitive functioning. The lack of effects was attributed to the low flavanols dose.

In terms of dose and duration, a similar study was implemented by Pase et al. (2013). In their study, middle-aged participants who consumed a cocoa beverage containing 0, 250, or 500 mg of CF for 30 days were subjected to Cognitive Drug Research Computerized Assessment System measuring attention and memory functions. Nevertheless, no difference in cognitive performance was observed between CF conditions.

Finally, Sorond et al. (2013) applied neuroimaging techniques to examine the link between cognitive functions and neurovascular coupling (NVC), and the effects of CF consumption. Older adults with vascular risk factors consumed either 1218 or 26 mg CF daily for a month. Afterward, they completed Mini-Mental State Examination and Trail Making Test A&B. The results demonstrated that participants with intact NVC showed a better cognitive performance. Regardless of CF dose, cocoa consumption improved NVC and Trail Making Test B performance in participants with impaired NVC. Although there was no control group for a fair comparison, observing the same effects in both conditions suggests that other components of cocoa may have an impact on NVC and executive functions.

Effects of Long-Term Intake of Cocoa Flavanols on Mood

Cocoa products, especially chocolate, are generally associated with pleasure and happiness. Carbohydrates, phenylethylamine, caffeine, tryptophan, anandamide, and magnesium are the main cocoa components thought to play a role in regulating mood. The effects of these bioactive components have been reviewed elsewhere (see: Nehlig, 2013; Tuenter et al., 2018). There are only a few randomized controlled trials addressing whether long-term CF consumption exerts any effect on mood. Nevertheless, there is strong evidence that the physiological changes caused by CF could regulate mood (Smith, 2013; Tuenter et al., 2018). For example, low BDNF level (Sleiman et al., 2016), increased oxidative stress (Westfall & Pasinetti, 2019), and reduced global cortical blood flow (Sackeim et al., 1990) are some of the important factors involved in the pathophysiology of depression. Based on the findings that CF intake increases antioxidant activity (Lee et al., 2003), BDNF level (Neshatdoust et al., 2016), and cerebral blood flow (Francis et al., 2006), the effects of CF consumption on anxiety, depression, fatigue, and stress have been examined (Table 1).

Sathyapalan et al. (2010) studied the effect of CF intake on symptoms of chronic fatigue syndrome by using several self-report questionnaires. After eight weeks of supplementation, the symptoms of chronic fatigue syndrome were significantly reduced in subjects consuming flavanol-rich chocolate reflected with improved scores in depression, anxiety, mental and physical fatigue questionnaires. Similar findings were obtained in the London Handicap Scale, in which general quality of life was evaluated. However, due to the limited sample size and the use of only self-report questionnaires, the findings of the study should be considered carefully.

Massee et al. (2015) used cocoa tablets to assess the effect of CF intake on mood and mental fatigue assessed by the Visual Analogue Scale. However, no effects on these variables were found in young participants when compared to placebo tablets. The insufficient dose of CF used in this study might account for the lack of effects on mood and fatigue.

In contrast, CF intake has been shown to positively affect mood in a study in which a higher dose was administered (Pase et al., 2013). Participants receiving a cocoa beverage containing 0, 250, or 500 mg CF for 30 days completed Bond-Lader Visual Analogue Scale at baseline and after treatment. Compared to the low dose and placebo, the high dose of CF intake improved self-rated calmness and contentedness. The positive effects of CF on mood and anxiety are partially related to polyphenols' regulatory function that binds to the benzo-

diazepine binding site of the GABA_A receptors (Hanrahan et al., 2011; Medina et al., 1997). Benzodiazepines are drugs that have anxiolytic properties and benzodiazepines are used to treat anxiety disorders (Carlson, 2013). Thus, CF may support mood by acting as an agonist on GABA receptors.

Ibero-Baraibar et al. (2016) explored the effect of CF intake on mood, anxiety, and dopaminergic activity in overweight or obese subjects on an energy-restricted diet. Half of the subjects were on a low-calorie diet for four weeks, while the others followed the same diet with cocoa supplementation. The plasma homovanillic acid (HVA), positively correlated with dopaminergic activity responsible for mood, increased in both groups. Compared to the control group, the HVA concentration was greater in the experimental group. However, no significant differences in depression and anxiety were observed between groups. Instead, the symptoms of depression measured by the Beck Depression Inventory were reduced in all subjects. The researchers noted that alleviation of depressive symptoms might be a result of weight loss following an energy-restricted diet.

More recently, Fox et al. (2019) investigated the effect of chocolate consumption on anxiety and depression by using combined positron emission tomography-computed tomography (PET-CT). Healthy subjects consuming both flavanol-absent white chocolate and flavanol-rich dark chocolate completed the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). No differences were observed in the HADS scores following five days of consuming dark chocolate, and these results were supported by the images obtained from the PET-CT scan. Compared to white chocolate, dark chocolate consumption had no impact on the activity of brain structures responsible for emotions, such as the amygdala. However, it should be taken into account that the different amounts of methylxanthines (caffeine and theobromine) in dark and white chocolate might have masked the effects of CF.

Conclusions

In recent years, randomized controlled trials have been conducted examining the effects of CF on cognitive functions and mood (see Table 1). Studies addressing the physiological effects of CF intake on NO synthesis, vasodilation, blood flow, and insulin sensitivity have been sufficiently replicated, and consistent results have been obtained. However, the findings in studies examining cognitive functions and mood differ considerably, contrary to physiological effects. Research design (parallel vs. crossover), the CF content (e.g., epicatechin), CF dose, and administration duration are some essential factors accounting for contradictory outcomes.

Table 1. Summary of Studies Examining the Effects of Long-Term Cocoa Flavanols Intake on Cognitive Functions and/or Mood

Reference	Sample	Design	Duration (days)	CF Dose	Main Findings
Francis et al. (2006)	16 subjects (16 females; 18-30 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover	5	172 mg (flavanol) <i>and</i> 13 mg (control)	BOLD signals increased in response to the task switching test in the flavanol condition. No differences were observed between flavanol and control conditions in the task-switching test.
Crews et al. (2008)	90 subjects (52 females; mean age:69)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	42	755 mg (flavanol) <i>or</i> 41 mg (control)	There are no significant differences in cardiovascular parameters (e.g. systolic/diastolic blood pressure) and cognitive functions between flavanol and control conditions.
Sathyapalan et al. (2010)	10 subjects with CFS (mean age:59)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover	56	950 mg (flavanol) <i>and</i> 10 mg (control)	In the flavanol condition, fatigue (measured by CFO), depression and anxiety symptoms (measured by HADS), and quality of life (measured by LHS) have improved.
Desideri et al. (2012)	90 subjects with MCI (64-82 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	56	990 mg (high), 520 mg (low) <i>or</i> 45 mg (control)	In the high and low dose CF condition, blood pressure and insulin resistance decreased, performance in the Trail Making Test A and B increased. In all conditions, especially in the high and low doses, performance in the Verbal Fluency Test improved.
Camfield et al. (2012)	63 subjects (40-65 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled, Parallel	30	500 mg (high), 250 mg (low) <i>or</i> 0 mg (control)	No significant differences in the spatial working memory task were observed between the groups. SSVEP responses differed in posterior parietal and centro-frontal regions between all conditions.
Pase et al. (2013)	72 subjects (40-65 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	30	500 mg (high), 250 mg (low) <i>or</i> 0 mg (control)	No difference was found between groups in the CDR measuring cognitive functions. Calmness and contentedness scores improved following 30 days of high CF consumption.
Sorond et al. (2013)	60 subjects with VRF (mean age:73)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	30	1218 mg (flavanol) <i>or</i> 26 mg (control)	In both conditions, NVC and performance in Trail Making Test B improved in subjects with impaired NVC at baseline.

Brickman et al. (2014)	37 subjects (50-69 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	90	900 mg (flavanol) or 10 mg (control)	The cerebral blood volume in the dentate gyrus and the reaction time in the ModBent Test improved (630 ms faster) in the flavanol condition.
Mastroiacovo et al. (2014)	90 subjects (65-85 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	56	993 mg (high), 520 mg (low) or 48 mg (control)	In the high and low dose CF condition, blood pressure and insulin resistance decreased, performance in the Trail Making Test A and B increased. In all conditions, especially in the high dose, performance in the Verbal Fluency Test improved.
Massee et al. (2015)	40 subjects (18-40 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	28	250 mg (flavanol) or 0 mg (control)	No difference in cognitive performance (measured by SUCCAB and CDB) and cardiovascular measures (cerebral blood flow and blood pressure) were observed between the flavanol and control groups.
Neshatdoust et al. (2016)	40 subjects (18 females; 65-72 years)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover	28	494 mg (flavanol) and 23 mg (control)	Serum BDNF level and general cognitive performance increased in the flavanol condition.
Ibero-Baraibar et al. (2016)	47 subjects with obesity (mean age:57)	Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel	28	645 mg (flavanol) or control	No difference was found between two groups in terms of anxiety (measured by STAI) and depression (measured by BDI) symptoms. The plasma HVA level of subjects in the flavanol condition increased.
Fox et al. (2019)	16 subjects (21-58 years; mean age:34)	Randomized, Single-Blind, Placebo-Controlled, Crossover	5	250 mg (flavanol) and 0 mg (control)	No difference in anxiety and depression symptoms (measured by HADS) was observed between flavanol and control conditions. In the high CF condition, glucose metabolism increased within the occipital, motor, somatosensory, and prefrontal cortices.

BDI, Beck Depression Inventory; BOLD, Blood-Oxygen Level-Dependent; BDNF, Brain-Derived Neurotrophic Factor; CDB, Cognitive Demand Battery; CDR, Cognitive Drug Research computerized assessment system; CF, Cocoa Flavanols; CFS, Chronic Fatigue Syndrome; CFQ, Chalder Fatigue Scale; HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale; HVA, Homovanillic Acid; LHS, London Handicap Scale; ModBent, Modified Benton Visual Retention Test; MCI, Mild Cognitive Impairment; NYC, Neurovascular coupling; PET-CT, Positron Emission Tomography-Computed Tomography; SSVEP, Steady-State Visually-Evoked Potential; STAI, State-Trait Anxiety Inventory; SUCCAB, Swinburne University Computerized Cognitive Assessment Battery; VRF, Vascular Risk Factor

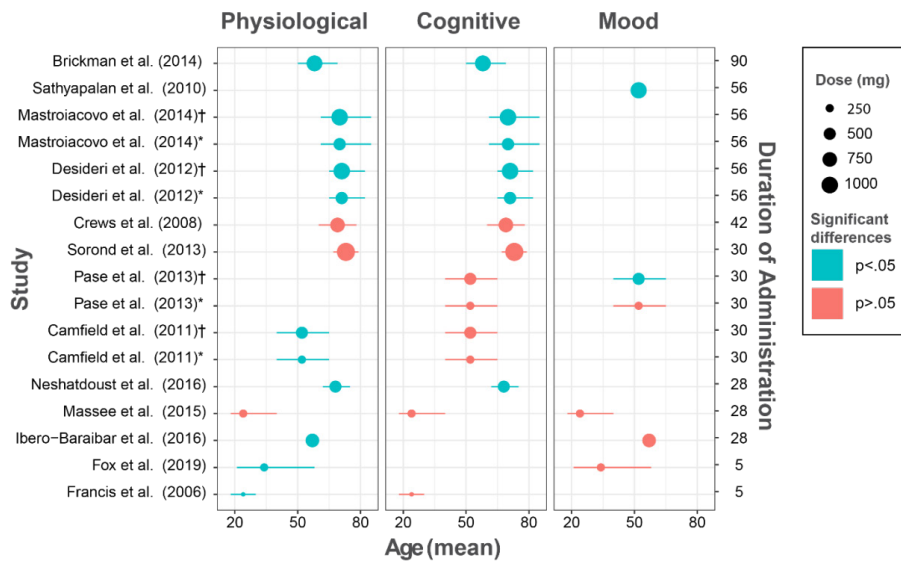


Figure 1. The effects of long-term cocoa flavanols intake on physiology, cognition, and mood as a function of age, dose, and administration duration.

The X-axis shows the age; Y-axis shows the list of studies and the administration duration (days). The horizontal lines indicate the age range, the location of the points indicates the mean age of the participants in the study, and the size of the points indicates the dose. The blue color indicates studies in which the effects of long-term CF intake were statistically significant ($p < .05$) in at least one of the measurements. The red color indicates that long-term CF intake did not affect any variable tested. Figure 1 was made based on the comparison between the flavanol condition and the control/placebo condition (not shown in the figure) in each study. Studies in which two different doses of CF were administered were depicted as independent studies. In the studies in which two different doses of CF were administered, † represents high-dose CF, whereas * represents low-dose CF.

To our knowledge, there is no study directly examining the effects of CF intake on physiology, cognition, and mood in terms of the dose and duration. However, it can be concluded that CF intake induces physiological responses even in low doses and in a shorter duration of administration. The contribution of the physiological response to cognitive functions and mood usually occurred with a longer CF intake. There is a pattern showing that longer CF intake predicts positive effects on these variables, regardless of dose. The pattern in Figure 1 shows that CF intake supports cognitive functions and mood in studies where the administration duration is at least eight weeks.

In vivo and *in vitro* studies conducted with humans and experimental animals show that long-term CF intake improves cognitive functions and mood by increasing the bioavailability of nitric oxide, which has a variety of functions, including dilating blood vessels, acting as a neurotransmitter, and improving insulin sensitivity. Furthermore, strong evidence has been presented that CF, which has high antioxidant activity and neuroprotective

properties, could support cognitive functions in cognitively intact individuals and prevent cognitive decline that inevitably occurs with aging through direct actions on receptors, enzymes, and signaling pathways. Despite the mixed findings observed in CF studies, long-term intake of CF, depending on the dose and administration duration, regulate mood and support various cognitive functions.