

# Kakao ve Çikolatada Bulunan Polifenollerin Kardiyovasküler Sağlık ile İlişkisi

## The Relationship Between Cardiovascular Health and Polyphenols Found in Cacao and Chocolate: Review

Yasemin ÇAKIR,<sup>a</sup>  
Nevin ŞANLIER<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Beslenme ve Diyetetik Bölümü,  
Gazi Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ankara

Geliş Tarihi/Received: 06.07.2015  
Kabul Tarihi/Accepted: 07.01.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Yasemin ÇAKIR  
Gazi Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara,  
TÜRKİYE/TURKEY  
dytyasemincakir@gmail.com

**ÖZET** Çikolata; *Theobroma cacao* L. ağacının çekirdeğinden elde edilen kuru, toz haline getirilmiş bir ürün olan kakaoya şeker, yağ, diğer ek maddeler ve bir miktar süt eklenerek elde edilen işlenmiş bir üründür. Zengin polifenol içeriğinden dolayı antioksidan özelliğe sahip olan ve fonksiyonel besin olarak değerlendirilen kakaonun ve çikolata gibi kakao içeren ürünlerin tüketiminin, Dünya'da ve Türkiye'de ölüm nedenlerinin başında gelen kardiyovasküler hastalıklar üzerine pek çok olumlu etkinin olduğu bilinmektedir. Kakao ve çikolata polifenollerinin bu etkilerinin çoğunlukla nitrik oksit biyoyararlılığını artırması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Bu durum, polifenollerin endotel fonksiyonunu geliştirmesi, platelet fonksiyonunu azaltması ve potansiyel olarak kan basıncı, insülin direnci ve kan lipitleri üzerine olumlu etki göstermesi ile açıklanabilmektedir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin görüşüne göre normal kan akımını sağlayan endoteliuma bağlı vazodilatasyonun sürdürülmesine yardımcı olabilmesi için günlük 200 mg kakao flavanolü alınmalıdır. Bu miktar, dengeli bir diyet çerçevesinde 2,5 g yüksek flavanol içeren kakao tozu veya 10 g yüksek flavanol içeren bitter çikolata ile sağlanabilmektedir. Ancak, çikolata ve kakao ürünlerinin uzun dönem tüketiminin uygulanabilirliği henüz net değildir. Sağlık üzerine pek çok olumlu etkisinin yanı sıra; enerji, doymuş yağ ve şeker içeriğinin yüksek olması söz konusu olduğundan, çikolata tüketimine ilişkin verilecek olan önerilerde miktar/sıklık kontrolünün iyi yapılması önem taşımaktadır. Bu nedenle, çikolata ve kakao tüketiminde optimal dozun, yüksek dozun yan etkilerinin belirlenmesi ve uzun dönem etkilerinin netleştirilmesi amacıyla büyük örneklerle yapılacak plasebo kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Kakao; polifenoller; kalp ve damar hastalıkları

**ABSTRACT** Chocolate is a processed product made by adding sugar, fat, other additives and a little milk together with cacao—a dry and powder product obtained from the core of the tree *Theobroma cacao* L. It is known that the consumption of cacao, having antioxidant properties due to the rich polyphenol content and considered as functional food, and cacao containing products like chocolate, has many positive effects on cardiovascular diseases leading mortality mostly in the world and Turkey. It is reported that these effects of cacao and chocolate polyphenols are associated with their increasing nitric oxide(NO) bioavailability. This can be explained by polyphenols' improving endothelial function, decreasing platelet function and having potentially positive effect on blood pressure, insulin resistance and blood lipids. According to European Food Safety Authority, 200 mg/day cacao flavanol should be intaken to help maintain endothelium-dependent vasodilation, contributing to normal blood flow. This amount can be provided by 2.5 g of high-flavanol cacao powder or 10 g of high-flavanol dark chocolate, both can be consumed in the context of a balanced diet. However, the applicability of long-term consumption of chocolate and cacao products isn't yet clear. Besides, many positive effects on health, the recommendations related to chocolate consumption/frequency control should be made carefully because of high energy, saturated fat and sugar content. Therefore, there is need for placebo-controlled studies with large samples to determine the optimal dose and adverse effects of high dose and clarify the long term effects in the consumption of cacao and chocolate.

**Key Words:** Cacao; polyphenols; cardiovascular diseases

doi: 10.5336/healthsci.2015-47141

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

**Türkiye Klinikleri J Health Sci 2016;1(3):213-22**

**A**ntik İnkalar döneminde çikolatanın, “Tanrı'nın İçeceği” olarak adlandırılmasından dolayı kakao ağacına, Yunanca Tanrı anlamına gelen “theo” ve içecek anlamına gelen “broma” sözcüklerinden oluşan “Theobroma cacao” ismi verilmiştir.<sup>1</sup> Kakao ağacının ilk kez ehlileştirilip üretildiği Meksika Körfezi kıyılarının alçak tepelerindeki toprakların, Maya Krallığı (M.Ö. 1500-400) ait olduğu, daha sonraları ise Tolteks ve Aztekler tarafından yetiştirildiği bilinmektedir.<sup>2</sup>

Kakao ve çikolatanın tedavi amaçlı kullanımı Yeni Dünya'da ortaya çıkmış ve 1500'ü yılların ortalarında Avrupa'ya yayılmıştır. Bu uygulamaların kökeni Olmek, Maya ve Meksika (Aztek)'ya dayanmaktadır. On altıncı yüzyıldan 20. yüzyılın ilk dönemlerine kadar kakao ve çikolatanın; çok zayıf bireylere vücut ağırlığı kazandırılması, bitkin ve yorgun hisseden bireylerin sinir sistemlerinin uyarılması, mental yorgunluk, böbrek taşları, iştahsızlık ve anemi tedavisi gibi pek çok amaçla kullanıldığı bilinmektedir.<sup>3</sup>

Günümüzde ise kakao ve çikolatanın, kardiyovasküler hastalıklar KVH başta olmak üzere kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve diyabetle ilişkisi olduğu bildirilmekte, sağlık üzerine etkilerinin anlaşılması, geliştirilmesi ve etki mekanizmalarının aydınlatılması için çalışmalar yürütülmektedir.<sup>4-7</sup>

Bu derleme çalışma, kakao ve çikolatada bulunan polifenolik maddelerin KVH'larla ilişkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.

## KAKAONUN BİLEŞİMİ VE ÖZELLİKLERİ

Kakao; *Theobroma cacao L.* ağacının çekirdeğinin kuru, toz hâline getirilmesiyle elde edilmektedir.<sup>8</sup> Kakao tozunun yaklaşık %26-40'ı posa, %15-20'si protein, %15'i karbonhidrat ve %10-24' (çoğunlukla %10-12)'ü lipittir. Ayrıca çeşitli vitaminler ve magnezyum, sodyum, potasyum, bakır, çinko vb mineraller de bulunmaktadır.<sup>9</sup>

Kakao çekirdeğinin kuru ağırlığının yaklaşık %6-8'ini polifenoller oluşturmaktadır.<sup>10</sup> Kakao, çay ve kırmızı şaraba göre daha yüksek konsantrasyonlarda flavonoid içermekte bu özelliği nedeni ile de fonksiyonel besin olarak tanımlanmaktadır.<sup>11,12</sup>

## ÇİKOLATANIN BİLEŞİMİ VE ÖZELLİKLERİ

Kakao terimi doğal bir ürünü tanımlarken, çikolata kakaoya şeker, yağ, diğer ek maddeler ve bir miktar süt eklenerek elde edilen işlenmiş ürünü ifade etmektedir.<sup>10</sup> Çikolatanın temel bileşiminde kakao kuru maddesi, kakao yağı ve şeker bulunmaktadır.

Çikolatanın yaklaşık %50-60'ı karbonhidrat, %32-37'si yağ ve %3-7'si proteindir. Bunlara ek olarak çikolata theobromin, mineraller (potasyum, magnezyum), iz elementler ve vitaminleri de içermektedir.<sup>10</sup> Tablo 1'de çeşitlerine göre çikolataların makro besin ögesi bileşenleri görülmektedir.<sup>13</sup>

Çikolata, Türk Gıda Kodeksi (TGK)'nin Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliğ Taslağı'na göre, içerdiği kakao oranları açısından çeşitlilik göstermektedir. Temel olarak “beyaz çikolata”, “sütlü çikolata”, “bol sütlü çikolata” ve “çikolata, sade çikolata” olarak gruplandırılabilir. Bunlara ek olarak “chocolate a la taza”, “chocolate familiar a la taza” gibi türler de bulunmaktadır. “Beyaz çikolata”; kakao yağı, süt veya süt ürünleri ile şekerlerden elde edilen ve bileşiminde en az %20 kakao yağı ve en az %14 süt kuru maddesi olan, süt kuru maddesinin; süt yağı içeriği en az %3,5 olan ürün olarak belirtilmektedir. “Sütlü çikolata”; kakao ürünleri, şekerler ve süt veya süt ürünlerinden elde edilen ve bileşiminde en az %25 kakao kuru maddesi, en az %14 süt kuru maddesi, en az %2,5 yağsız kakao kuru maddesi, en az %3,5 süt yağı, en az %25 toplam yağ (kakao yağı ve süt yağı) bulunan ürünü ifade etmektedir. “Bol sütlü çikolata;” toplam kakao kuru maddesinin her biri en az %20, süt kuru maddesi ve, yağsız kakao kuru maddesi en az %2,5, süt yağı en az %5, toplam yağ (kakao yağı ve süt yağı) oranı en az %25 olan çikolatadır. “Çikolata, sade çikolata” ise kakao ürünleri ile şekerlerden elde edilen, en az %18 kakao yağı ve en az %14 yağsız kakao kuru maddesi içeren, toplam kakao

**TABLO 1:** Bitter, sütlü ve beyaz çikolatanın bileşenleri.<sup>13</sup>

Çikolatanın türü	Karbonhidrat (%)	Yağ (%)	Protein (%)
Bitter çikolata	63,5	28,0	5,0
Sütlü çikolata	56,9	30,7	7,7
Beyaz çikolata	58,3	30,9	8,0

kuru maddesi içeriği en az %35 olan ürünü ifade etmektedir.<sup>14</sup>

## ÇİKOLATANIN YAPIM SÜRECİ

Çikolata üretiminde kullanılan temel maddeler; kakao çekirdeği/kakao likörü, kakao yağı, şeker, süt, lesitin, vanilin ve tuzdur. Kakao çekirdeğinin öğütülmesi ile elde edilen kakao likörü, çikolata ürünlerinin lezzeti üzerine en büyük etkiye sahip etmenddir. Presleme ile katı kısmından ayrılan yağ, bitkisel kaynaklı olmasına rağmen katı bir yağdır. Çikolatanın yağ asidi bileşimi; %25-35 palmitik asit, %30-35 stearik asit, %38 oleik asit, %2 linoleik asitten oluşmaktadır.<sup>15</sup>

Çikolata üretim basamakları ürün tipine göre farklılıklar göstermekle beraber, temelde karıştırma, inceltme, konçlama, temperleme ve soğutma işlemleri olmak üzere beş aşamada gerçekleşmektedir.<sup>13,16</sup>

## KAKAO VE ÇİKOLATA POLİFENOLLERİ

Kakaonun içerisindeki toplam polifenol miktarı, tohumun kuru ağırlığının %6-8'i kadardır. Kakao-dan çikolata yapımı sürecinde fermentasyon işleminin ardından polifenoller kayba uğramakta ve son üründe genel olarak yaklaşık %20 civarında bulunmaktadır.<sup>17</sup> Ayrıca, TGK'yi 2015 yılı Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliğ Taslağı çerçevesinde çeşitli çikolataların üretiminde kakao yağına ek olarak bitkisel yağ ve hindistan cevizi yağı kullanımı na izin verilmesi sebebiyle son ürünün polifenol içeriklerinde farklılıklar oluşabilmektedir.

Wollgast ve Anklam, kakao çekirdeği polifenollerini sırasıyla; kateşin (%37), antosiyanin (%4) ve prosiyanidinlerin (%58) oluşturduğunu rapor etmişlerdir.<sup>18</sup> Flavanoller, kakao polifenollerinin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Flavanoller; monomer [kateşin, epikateşin ve türevlerinin (+) ve (-) izomerleri] ve (epi) kateşin alt ürünlerinden meydana gelen polimerler (proantosiyanidinler) oluşturmaktadır. Flavan-3-ol, kateşin ve epikateşin, oligomerik prosiyanidinler çikolatada bulunan temel flavonoidlerdir. (-) -Epikateşin kakao çekirdeği polifenollerinin yaklaşık olarak %35'ini oluşturmaktadır.<sup>19</sup>

Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, prosiyanidin monomerlerinin koroner kalp hastalıkları (KKH) riskini azalttığını ortaya koymaktadır.<sup>20,21</sup> Prosiyanidin monomeri olarak (+)-kateşin ve (-)- epikateşin alımları ile KKH'den ölümler arasında ters ilişki olduğu bildirilmektedir.<sup>22</sup>

## BİYOYARARLILIKLARI

Flavanollerin biyolojik aktivitesi büyük ölçüde bileşenin biyoyararlılığına bağlıdır. Emilim, ara metabolitler, emilim sonrası doku ve hücrelere dağılımı, biyoaktif formları gibi faktörler dikkate alınmalıdır.<sup>23</sup>

Emilim akut tüketimin ardından hızlanmakta ve flavonoidler iki saat içerisinde kanda maksimum konsantrasyona ulaşmaktadır.<sup>24</sup> Emilim, bireyler arasında ve molekül büyüklüklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Monomerler, kateşin ve epikateşin, mikromolar konsantrasyona ulaşırken, prosiyanidinler yalnızca nanomolar düzeye ulaşmaktadır. Monomerler arasında da varyasyonlar bulunmakta olup kateşinler, epikateşin konsantrasyonunun %10'undan daha azına ulaşmaktadır. Eşlik eden öğünün türü eğer lipit ve proteinden zengin ise emilimi etkilememektedir. Ancak, karbonhidrattan zengin bir öğün tüketiliyorsa emilim %40'a kadar ulaşabilmektedir.<sup>25-27</sup>

Bitter çikolata (951 mg kateşin/40 g), sütlü çikolatadan (394 mg kateşin/40 g) daha fazla flavonoid içeriğine sahiptir. Ayrıca, bitter çikolatanın biyolojik etkisi de sütlü flavonoidlerinbarsaktan emilimini inhibe edebilme olasılığı nedeni ile sütlü çikolatadan daha fazla olabilmektedir.<sup>28</sup>

## KAKAO VE ÇİKOLATANIN KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

KVH'ler dünya çapında, mortalite ve morbiditenin majör nedeni olma yolunda gittikçe artan bir rol üstlenmektedir. Avrupa'da bütün ölümlerin %47'si KVH'ler nedeni ile meydana gelmektedir.<sup>29</sup> Tüm dünyada KVH'lerden ölüm oranının 1990-2020 yılları arasında, %28,9'dan %36,3'e yükseleceği öngörülmektedir.<sup>30</sup>

Türkiye’de ise ölüm nedenleri arasında, KVH’ye bağlı ölümler birinci sırada gelmektedir.<sup>31</sup> Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması (2011)’na göre beş yaş üstü nüfusta KKH sıklığı erkeklerde % 4, kadınlarda %2’dir. KKH sıklığı, erkeklerde yaşla birlikte artış göstermektedir. KKH sıklığı 20 yaş üzeri grupta erkeklerde %5,0, kadınlarda %2,6; 30 yaş üzeri grupta erkeklerde %6,1, kadınlarda %3,3 iken; 75 yaş üstü grupta ise %20’ye yaklaşmaktadır.<sup>32</sup>

Son zamanlarda kakao ve çikolatanın kardiyovasküler sağlık üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Djousse ve ark. çikolata tüketiminin KVH prevalansı ile ters yönde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.<sup>33</sup> Ding ve ark. tarafından yapılan deneysel, gözlemsel ve klinik 136 çalışmanın sistematik derlemesinde, kakao ve çikolatanın kan basıncını düşürerek antiinflamatuvar, antiplatelet özellik göstermesi, düşük dansiteli lipoprotein kolesterol [Low Density Lipoprotein (LDL-K)] oksidasyonunu azaltırken yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol [High Density Lipoprotein (HDL-K)] düzeyini artırması gibi mekanizmalarla KVH’ler üzerine olumlu etkilere sahip olabileceği belirtilmiştir.<sup>28</sup>

Yapılan çalışmalarda, çikolatanın da içinde bulunduğu çeşitli kakao ürünlerinin yanı sıra kakao üreticileri tarafından kakaonun sağlık yararlarını geliştirmek için polifenol, metilksantin, diyet posasını artırarak ve enerji içeriğini düşürerek (yağ ve şeker içerikleri) üretilen yeni ürünler de kullanılmaktadır.<sup>34,35</sup> Çalışmalarda, kakaonun sağlık üzerine etkisinin temel olarak içerdiği polifenollerden kaynaklandığı belirtilmekte ve bu etkiye ilişkin çeşitli mekanizmalar ortaya konulmaktadır.<sup>36,37</sup>

## POLİFENOLLERİN ETKİ MEKANİZMALARI

### Endotel Fonksiyonuna Etkisi

Endotelyum, yüksek bir seçici geçirgenliğe sahip olan, bütün kan damarlarını saran, nontrombojenik, düz ve sürekli bir yüzeydir. Çok çeşitli vazodilatör madde sentezler ve salgılar. Endotelyumdan üretilen en önemli vazodilatör nitrik oksit (NO) tir. Endotelden vasküler düz kas hücrelerine difüzyonunun ardından, NO intraselüler sıklık kuanozin

monofosfat konsantrasyonunu artırır ve vasküler genişlemeyi sağlar. NO yalnızca vazodilatasyonu sağlamakla kalmaz, aynı zamanda lökosit adezyon ve migrasyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu, platelet adezyon ve agregasyonunu da önler.<sup>38</sup>

Endotelyum kendi tonusunu düzenleyerek kan akım ve dağılımını lokal ortam değişikliklerine göre ayarlar. Çoğu damar akım artışına, yani gerilme stresine (shear stres) dilatasyon yanıtı vermekte ve bu olaya “akım aracılı dilatasyon” (flow-mediated dilation, FMD) denilmektedir. Endotel fonksiyonun göstergesi olan FMD’nin ana mediyatörü endotel kaynaklı NO’dur.<sup>39</sup> NO’nun plazma konsantrasyonları FMD ile korelasyon göstermektedir.<sup>40</sup>

Endotel hücre disfonksiyonu, KVH için bir risk faktördür. Bu nedenle in vivo ve in vitro çalışmalarda oldukça üzerinde durulan bir konudur.<sup>41</sup>

İn vivo ortamda kakao polifenolleri, NO biyoyararlılığını artırır. Bu durum kardiyovasküler sistem için koruyucu niteliktedir. Yapılan bir çalışmada üç hafta boyunca günlük 50 g bitter çikolata tüketiminin ardından sağlıklı bireylerden izole edilen plateletler tarafından NO üretiminin arttığı saptanmıştır.<sup>42</sup> Sies ve ark.nın gönüllü bireylerde farklı miktarlarda flavanol içeren kakao içeceklerinin etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, endotelial fonksiyonu azalmış bireylerin flavanolden zengin kakao tüketmelerinden iki saat sonra, plazma NO konsantrasyonlarında sağlıklı kontrol grubunun ortalama konsantrasyonlarına yakın bir değere ulaşabilecek şekilde bir artış olduğu ve FDM’nin iki katına çıktığı saptanmıştır.<sup>40</sup> Hermann ve ark. nın yaptığı çalışmada, 40 g ticari bitter çikolatanın (%74’ü kakao) sigara tüketen sağlıklı genç bireylerde FDM’yi %80 oranında iyileştirdiği, saptanmış, fakat aynı etki beyaz çikolata (%4 kakao) için tespit edilememiştir.<sup>43</sup>

West ve ark., dört hafta boyunca günlük 37 g bitter çikolata ve şekersiz kakao içeceği (toplam kakao=22 g/gün, total flavanol= 814 mg/gün) tüketiminin brankiyal arterde vasküler konstrüksiyonda önemli derecede azalma sağladığını saptamış ve bu sonucun NO sentezindeki artışla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.<sup>44</sup> Aynı çalışmada, çi-

kolata ve kakao tüketen grupta yer alan kadın bireylerde, arteriyel sertlik göstergesi olan sertlik indeksinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir.

Shiina ve ark. 39 sağlıklı erkek bireyle yaptıkları çalışmada, iki hafta boyunca flavonoidden zengin bitter çikolata (45 g, 200 kcal, 550 mg/gün kakao polifenolü) tüketenlerin, flavonoid içermeyen beyaz çikolata (35 g, 140 kcal, 0 mg/gün kakao polifenolü) tüketen kontrol grubuna göre koroner dolaşımında önemli gelişmeler meydana geldiğini bildirmişlerdir.<sup>36</sup> Bu gelişmelerin oksidatif stres parametreleri, kan basıncı ve lipid parametrelerindeki değişiklikler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

### Kan Basıncına Etkisi

Hipertansiyonun düzenlenmesinde temel yaklaşımlardan biri diyetin modifiye edilmesidir.<sup>27</sup> Bu bağlamda, diyete kakao ve çikolatanın eklenmesinin kan basıncının düşürülmesinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>37,45</sup>

Kakaonun kan basıncı üzerine etkilerini açıklamak için bir takım mekanizmalar öne sürülmektedir. Kan basıncının düzenlenmesindeki rolleri nedeni ile, NO varlığı ve endotelial fonksiyondaki gelişmelerin kakao tüketimiyle ilişkisinin, kakao ve çikolatanın antihipertansif etkisini açıklayabileceği ifade edilmektedir. Bununla birlikte kakaonun da içinde bulunduğu flavanol ve flavanolden zengin besinlerin in vitro ortamda anjiyotensin dönüştürücü enzim [Angiotensin- converting enzyme (ACE)] aktivitesini inhibe edebileceğini gösteren kanıtlar da bulunmaktadır.<sup>46,47</sup> Anjiyotensin I, aldosteron ve antidiüretik hormonu (vazopressin) stimüle eden anjiyotensin II'ye dönüşerek vücutta sodyum ve sıvı retansiyonunu artırmaktadır. ACE vazodilatör olan bradikinin ve kallidini inaktive etmektedir. İnsanlarda ACE inhibisyonunun kakao flavanollerinin antihipertansif aktivitesinde etkili olup olmadığı henüz netlik kazanmamıştır.<sup>48</sup>

Hipertansif bireylerde 15 gün süresince günlük 100 g çikolata (500 mg polifenol) tüketimi ile kan basıncında azalma (4 mmHg) olduğu bildirilmiştir.<sup>37</sup> Normotansif bireylerle yapılan bir çalışmada, 14 gün boyunca günlük 105 g çikolata (168 mg flavanol) tüketiminin ardından benzer bulguların olduğu, ayrıca oksidatif stres belirteçlerinde

de azalmalar olduğu bildirilmiştir.<sup>7</sup> Kakao uygulaması ile takip edilen hipertansif hastaların bulunduğu beş randomize kontrollü çalışmanın meta analizinde, kan basıncında antihipertansif ilaçların etkisine benzer şekilde azalmalar (4,7 mmHg sistolik ve 2,8 mmHg diastolik basınç) gözlenmiştir.<sup>49</sup> On üç hipertansiyonlu hastanın dâhil edildiği kesitsel bir çalışmada, günlük 100 g çikolata tüketimi, uygulamadan 14 gün sonra sistolik kan basıncında anlamlı düzeyde bir azalma ile ilişkili bulunmuştur.<sup>45</sup> Ancak yapılan bir çalışmada iki hafta boyunca flavanolden zengin (900 mg flavanol/gün) kakao içeceği tüketiminin kan basıncına etki etmediği de bildirilmiştir.<sup>50</sup>

Çikolatanın kan basıncını düşürücü etkisinin değerlendirildiği müdahale çalışmalarının çoğunda kullanılan çikolata miktarı ~100 g/gün'dür. Çikolatanın enerji ve yağ içeriği göz önünde bulundurulduğunda bu miktarın günlük tüketilebilecek değerlerin üzerinde olduğu görülmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada, 18 hafta boyunca günlük yalnızca ~6 g bitter çikolata tüketiminin sistolik kan basıncını ortalama 2,9 mmHg, diastolik kan basıncını ise ortalama 2,1 mmHg düşürdüğü saptanmıştır.<sup>51</sup> Zutphen Yaşlı Çalışması'nda günlük 4 g kakao tüketen (yaklaşık 10 g bitter çikolataya eş değer) erkeklerin, kakao tüketmeyen erkeklere göre sistolik kan basınçlarının ortalama 3,7 mmHg, diastolik kan basınçlarının ise ortalama 2,1 mmHg daha düşük olduğu saptanmıştır.<sup>52</sup>

### Oksidatif Stres ve Kan Lipitleri Üzerine Etkisi

Oksidatif stres veya serbest radikallerin eliminasyonunun azalması ile birlikte üretiminin artması arasındaki dengesizlik, LDL-K oksidasyon sebeplerinden biri olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller, NO biyoyararlılığını azaltmakta ve vasküler endotelial hücreler için sitotoksik özellik taşımaktadır. Oksidatif stres DNA, lipid, protein gibi moleküllere zarar vermekte ve endotelial fonksiyonun bozulmasına neden olmaktadır.<sup>53,54</sup>

Yapılan çalışmalar sonucunda kakao ve bitter çikolatanın HDL-K konsantrasyonunu ve plazma antioksidan kapasitesini artırdığı, lipid oksidasyon ürünlerinin oluşumunu azalttığı bildirilmiştir.<sup>55-57</sup> Kakaonun HDL-K'yı üzerine artırıcı etkisinin

çöpçü reseptör B Tip 1 ekspresyonunda, sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinde, ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı A1 ve apolipoprotein A1'de artış sağlamasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.<sup>35</sup> Kakaonun LDL-K düşürücü etkisinin;

1) Sindirim kanalında kolesterolün absorpsiyonunun inhibe edilmesinden,

2) Karaciğerde LDL-K biyosentezinin inhibisyonundan,

3) Apolipoprotein B100'ün hepatik sekresyonunun baskılanmasından,

4) Karaciğerde LDL-K reseptörlerinin ekspresyonunun artmasından kaynaklanabileceği ifade edilmektedir.<sup>54</sup>

Sağlıklı gönüllü bireylerle yapılan bir çalışmada, iki haftalık bir periyotta 24 g'ın üzerinde kakao alımının (günlük 1,74 g polifenol ve 0,21 g kateşin) LDL-K'nın oksidatif duyarlılığında azalma sağladığı saptanmıştır.<sup>58</sup> Baba ve ark.nın yaptığı çalışmada dört hafta boyunca günlük 13 g ve üzeri kakao tüketiminin okside LDL-K düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Bu etki özellikle çalışmanın başında LDL-K konsantrasyonu  $\geq 3,23$  mmol/L olan bireylerde belirlenmiştir.<sup>59</sup> Benzer şekilde Baraibar ve ark.nın yürüttüğü çalışmada, dört hafta süresince hipokalorik bir diyetle, hazır olarak verilen öğüne ek olarak tüketilen günlük 1,4 g kakao ekstraktının (toplam 645,3 mg polifenol) orta yaş bireylerde, özellikle erkeklerde oksidatif durumu (okside LDL-K) iyileştirdiği saptanmıştır.<sup>60</sup>

Sağlıklı (n=24) ve orta düzeyde hiperkolesterolemik (200-240 mg/dL, n=20) bireylere iki haftalık hazırlık sürecinin ardından dört hafta 400 mL/gün olacak şekilde tek başına süt ve sonraki dört hafta ise süt içerisine toplamda günlük 43,5 mg flavanol içerecek şekilde iki şase (7,5 g/şase) çözülebilir kakao ürünü tüketirilen çalışmada, kakao uygulamasının bireylerin vücut ağırlığı ve diğer antropometrik ölçümlerini değiştirmeden, HDL-K seviyelerinde iyileşme sağlandığı saptanmıştır.<sup>35</sup>

Nanetti ve ark. üç hafta boyunca günlük 50 g flavonoidden zengin bitter çikolata tüketiminin

sağlıklı bireylerde vücut ağırlığında veya bel çevresinde artış olmaksızın HDL-K'da önemli derecede artma, trigliserid konsantrasyonlarında ise önemli ölçüde azalma sağlayarak lipoprotein profillerini iyileştirebileceğini ve bu etkinin kardiyovasküler sistem için koruyucu olabileceğini ortaya koymuşlardır.<sup>42</sup> Bu koruyucu etkinin erkeklere kıyasla kadınlarda, özellikle östrojen seviyesinin azaldığı, oksidatif stres ve dolayısıyla kardiyovasküler riske daha yatkın hâle geldiği menopoz döneminde, daha fazla olabileceği bildirilmiştir.

Hayvan ve insan çalışmalarında kakao/çikolata tüketimi ve polifenol alımının serum LDL-K konsantrasyonunu ve oksidasyona duyarlılığını azalttığı ancak, serum HDL-K konsantrasyonunu artırdığı vurgulanmasına rağmen, çalışmaların çoğunda lipit profili üzerine nötr bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>61,62</sup> Bununla birlikte dikkat çeken bir diğer nokta, kakao bitkisinden elde edilen ve bitter çikolatada daha fazla oranda bulunan kakao yağıdır. Kakao yağının ortalama %33'ü oleik asit (cis-18:1 tekli doymamış), %25'i palmitik asit (16:0 doymuş) ve %33'ü stearik asittir. Özellikle et ve süt ürünlerinde bulunan uzun zincirli doymuş yağ asidi olan stearik asidin (18:0), diyetdeki doymuş yağlar içerisinde nonaterojenik etkiye sahip olduğu öne sürülmektedir.<sup>61</sup> Ayrıca, doymuş yağların total kolesterol ve LDL-K seviyelerini artırarak olumsuz etki gösterdiği düşünülmekle birlikte, farklı çalışmalarda stearik asidin nonkolesterolemik etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir.<sup>63,64</sup>

Çikolata ve çeşitli bileşenlerinin lipit düzeyleri üzerine etkileri kesin değildir. Daha büyük örneklerle iyi dizayn edilmiş kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Yüksek yağ içeriğine rağmen kakaonun tek başına lipit metabolizması üzerine olumsuz etkisi belirtilmemiş olsa da çikolata ürünlerinin palm yağı gibi işlenmiş yağ ve süt içerdiği unutulmamalıdır.<sup>61</sup>

#### Platelet Fonksiyonuna Etkisi

Plateletler, koroner arter hastalıklarında temel olarak rol oynarlar. Aterojenik lezyonların erken dönemlerinde bulunurlar. Ayrıca, plak oluşumu ile ilişkili olan erken inflamatuvar olaylara, ilerlemiş ve

stabil olmayan plakların yıkımı (rüptürü) sonrası oluşan trombojenik sürece katkıda bulunurlar.<sup>65</sup> Yapılan çalışmalarda, tek doz polifenol alımının ardından platelet reaktifliğinde ve plateletle ilişkili primer homeostazisde azalma saptanmıştır. Benzer şekilde yapılan çalışmalarda kakao polifenollerinin antiagregasyon etkisi ortaya konulmuştur.<sup>56,66</sup>

Rein ve ark. yaptıkları çalışmada, çalışma başlangıcında flavonoidden zengin kakao içeceği, kafein içeren kontrol içeceği ve su tüketiminden iki ile altı saat sonra platelet aktivasyon belirteçlerini, platelet mikro-partikül oluşumunu ve primer agregasyonu değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, çalışma sonucunda iki ve altı saat sonra kakao içeceğine yanıt olarak platelet aktivasyon belirteçlerinde ve platelet agregasyon yeteneğinde azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.<sup>56</sup>

Kakaonun platelet fonksiyonundaki etkisine ilişkin öne sürülen mekanizmalardan biri de, NO'nun platelet reaktivasyonunu azaltabilme özelliği ile ilgilidir. Flammer ve ark. yaptıkları çalışmada, 22 kalp transplant hastasında, flavonoidden zengin bitter çikolatanın koroner vasküler ve platelet fonksiyonları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, flavonoidden zengin 40 g'lık bitter çikolatanın (0,27 mg/g kateşin, 0,9 mg/g epikateşin, toplam polifenol eş değeri: 15,6 mg epikateşin eş değeri/g) koroner arter çapını artırdığı, endotelyum bağımlı koroner vazomozyonu iyileştirdiği ve platelet adezyonunu azalttığı gösterilirken, kontrol grubunda ise değişiklik saptanmamıştır.<sup>67</sup>

Murphy ve ark., kakaonun, bir platelet aktivasyon belirteci olan platelet P-selektin ekspresyonunu, adozin difosfat ve kollajen tarafından uyarılan platelet agregasyonunu önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir.<sup>66</sup> Sigara içen sağlıklı genç bireylerde yapılan bir çalışmada, gerilme stresine (shear-strese) bağılı platelet testi ile değerlendirme sonucunda, bitter çikolatanın platelet adezyonunda azalma sağladığı saptanmıştır.<sup>43</sup> Carnevale ve ark.nın yaptıkları çalışmada, sigara içen bireylerde bitter çikolata tüketiminin platelet reaktif serbest radikalleri (ROS) (-%48, p<0,001) ve NOX2 aktivasyonunu (-%22, p<0,001) azalttığı saptanmış, fakat aynı etki sağlıklı bireylerde saptanmamıştır.<sup>68</sup>

## İnflamasyona Etkisi

Kronik ve akut inflamasyon, ateroskleroz ve endotel disfonksiyonun gelişiminde temel mekanizmalardan biridir.<sup>69</sup> Endotel disfonksiyon nedeni ile NO biyoyararlılığının azalması sonucu, nükleer transkripsiyon faktörü (NFkB)'nin inhibe edilmesinde azalma meydana gelmektedir. NFkB, adezyon molekülleri, sitokinler ve aterogeneizde görev alan diğer molekülleri içeren proinflamatuvar proteinleri kodlayan genin aktifleştirci bölgesine bağlanmaktadır. NO ise inflamatuvar hücreleri endotelyuma çeken ve damar duvarlarına migrasyonunu sağlayan sitokin ve hücre adezyon moleküllerinin sentez ve ekspresyonunu inhibe etmektedir.<sup>53</sup> Flavonoidlerin NFkB aktive eden intraselüler reaktif oksijen türlerini azaltarak sitokin transkripsiyonunu inhibe edebileceği bildirilmiştir.<sup>70</sup> Mao ve ark. yaptıkları çalışmada, kakao flavanollerinin inflamatuvar yanıtta görev alan sitokinleri ve eikosanoitleri azaltabileceğini ortaya koymuşlardır.<sup>71</sup>

İnsanlarda kronik inflamasyonun tanımlanması için pek çok biyo belirteç kullanılmaktadır. Kardiyovasküler riski değerlendirmek için çoklu biyobelirteçlerin değerlendirilmesi önerilmesine rağmen, yüksek C-reaktif protein (CRP) konsantrasyonu yüksek riskli KKH ile ilişkilendirilmektedir.<sup>54</sup> En az bir yıldır çikolata tüketmeyen bireyler ile düzenli çikolata tüketen bireylerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, orta düzeyde kakao tüketimi ile inflamasyon arasında önemli bir korelasyon bulunmuştur. Her üç günde bir porsiyon (20 g) bitter çikolata tüketen (günde yaklaşık 6,7 g) bireylerin serum CRP konsantrasyonlarının hiç tüketmeyen bireylere göre daha düşük olduğu saptanmıştır.<sup>72</sup> Ancak Mathur ve ark.nın yaptıkları çalışmada, altı hafta boyunca bitter çikolata bar (36,9 g, 651 mg prosiyanidin) ve kakao tozu ile yapılan içecek (30,9 g, 651 mg prosiyanidin) tüketiminin LDL-K oksidasyon duyarlılığında önemli bir azalma sağlamasına rağmen, inflamatuvar belirteçler [kan interlökin (IL)-1β, IL-6, tümör nekrozis faktör-α ve P selektin] üzerinde bir etkinin görülmediği ifade edilmiştir.<sup>57</sup>

Serum CRP konsantrasyonu KVH için bir gösterge olmasına rağmen, yüksek serum konsantrasyonlarının hastalığın sonucu olup olmadığı veya

hastalığın gelişmesine katkıda bulunup bulunmadığını belirlemek için yeterli değildir. Bu nedenle kakao ürünlerinin/tek tek ürün bileşenlerinin uygun alım düzeyleri ve daha düşük CRP düzeylerinin hastalığın prognozunu iyileşmesinde ve sağlıklı popülasyonda riskin düşmesinde etkili olup olmadığı henüz değerlendirilmemiştir.<sup>73</sup> Bununla birlikte, kakaonun oksidatif stres ve sağlık belirteçleri üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilse de epidemiyolojik çalışmaları desteklemesi ve hastalıkları önleyebilmesi için stres altındaki bireylerle yapılan uzun dönemli, randomize klinik çalışmalarına ihtiyaç vardır.<sup>74</sup>

### İnsülin Direncine Etkisi

İnsülin direnci KVH'ler için önemli bir risk faktörüdür. İnsülin duyarlılığı, kısmen insülin aracılı NO sentezine bağlıdır.<sup>61</sup> Bu nedenle flavanoller ve ilişkili fenolik antioksidanlar, NO biyoyararlılığını artırarak, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunu azaltarak insülin direncine karşı rol oynayabilmektedir.<sup>54</sup>

Obez fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 10 hafta %8 kakao tozu suplementasyonunun insülin direncini ve obezite ilişkili yağlı karaciğer hastalığının şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, kakao suplementasyonunun IL6 (IL-6, %30,4) ve monosit kemoatraktan protein-1 seviyelerini (%25,2) azalttığı ve yüksek miktarda yağ içeren diyet tüketen farelere kıyasla adiponektin düzeylerini (%33,7) artırdığı bildirilmiştir.<sup>75</sup> Yapılan bir başka çalışmada, kakao likörü prosiyanidinleri ile yapılan diyet suplementasyonunun diyabetik farelerde doza bağlı olarak hiperglisemi gelişimini önlediğinin rapor edilmesinde bu sonucu desteklemektedir.<sup>76</sup>

Sağlıklı gönüllülerde yedi günlük kakaosuz bir deneme sürecinin ardından, 15 gün süresince 500 mg polifenol içeren 100 g bitter çikolata ve polifenol içermediği kabul edilen 90 g beyaz çikolata uygulaması sonucunda, bitter çikolata tüketen sağlıklı bireylerde insülin duyarlılığının iyileştiği bildirilmiştir.<sup>7</sup> Bozulmuş glukoz toleransı olan hipertansif bireylerde flavonoidden zengin çikolata uygulaması sonrası pankreatik beta hücre fonksiyonunda ve insülin duyarlılığında önemli ölçüde artışlar saptanmıştır. Pankreatik beta hücre fonksiyonunda ve

insülin duyarlılığında oluşan bu artışın direkt olarak FHD'deki artış ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu şekilde flavonoidlerin NO-bağımlı vasküler fonksiyon ile insülin duyarlılığı üzerine etkisinin mekanik açıdan bağlantılı olabileceği belirtilmektedir.<sup>37</sup> Ancak, kakao tüketiminin insülin direnci ve metabolik bozukluklar üzerine etkisini inceleyen çalışma sayısı yetersizdir. Bunun en önemli sebeplerinden biri, diyabetik bireylerde kakaonun ve çikolatanın metabolik etkilerinin çalışılmasının zor olmasıdır.<sup>61</sup>

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Zengin polifenol içeriğinden dolayı antioksidan özelliğe sahip olan ve fonksiyonel besin olarak değerlendirilen kakao ve ürünlerinin tüketiminin, dünyada ve Türkiye'de ölüm nedenlerinin başında gelen KVH üzerine pek çok olumlu etkileri bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, kakao ve çikolata tüketimi ile kan basıncı ve KHV riski arasında ters bir ilişki olduğu rapor edilmiştir.<sup>37,45</sup>

Kakao ve çikolatanın kardiyovasküler sağlık üzerine yararlı etkileri çoğunlukla NO biyoyararlılığını artırması ile ilişkilidir. Bu durum, kakao ve çikolatada bulunan polifenollerin endotel fonksiyonunu geliştirmesi, platelet fonksiyonunu azaltması ve potansiyel olarak kan basıncı, insülin direnci ve kan lipitleri üzerine olumlu etki göstermesi ile açıklanabilmektedir. Daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, mevcut veriler kakaonun yararlı etkilerinin temel olarak flavanol, özellikle de epikateşin ve prosiyanidin içeriğinden ileri geldiğini göstermektedir.<sup>61</sup>

Kardiyovasküler riskin azaltılması, ateroskleroz gelişiminin potansiyel olarak geciktirilmesi için günlük diyetle flavonoidden zengin kakao ve çikolatanın orta düzeyde tüketimi önerilmektedir. Bu bağlamda Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi, normal kan akımını sağlayan endotelyuma bağlı vazodilatasyonun sürdürülmesine yardımcı olabilmesi için, günlük 200 mg kakao flavanolünün alınmasını uygun bulmuştur. Bu miktarın dengeli bir diyetle 2,5 g yüksek flavanol içeren kakao tozu ile veya 10 g yüksek flavanol içeren bitter çikolata ile sağlanabileceği belirtilmektedir.<sup>77</sup> Ancak, çikolata ve



kakao ürünlerinin uzun dönem tüketiminin uygulanabilirliği henüz açıklığa kavuşmamıştır.<sup>61</sup> Bu nedenle, çikolata ve kakao tüketimi önerisi yapabilmek için yüksek dozun yan etkileri ile optimal dozun belirlenmesi ve uzun dönem etkilerinin netleştirilmesi amacıyla büyük örneklerle yapılacak plasebo kontrollü uzun dönem çalışmalara ihtiyaç vardır.<sup>42,53</sup> Bu çalışmalar yapılırken, üretim sürecinde polifenol konsantrasyonları önemli ölçüde azaldığı için ve bununla birlikte TGK'ı 2015 yılı Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliğ Taslağı çerçevesinde kakao yağına ek olarak bitkisel yağ eklenebilmesine bağlı polifenol içeriğinde değişiklikler meydana gelebileceği için son ürünün flavanol içerikleri özellikle dikkat edilmesi gereken noktalardan biridir.<sup>78</sup> Dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta dünya ve Türkiye genelinde kakao tük-

ketiminin çikolata şeklinde olmasıdır.<sup>73</sup> Sağlık üzerine pek çok olumlu etkisinin yanı sıra enerji, doymuş yağ ve şeker içeriğinin yüksek olması nedeni ile yapılan çalışmalarda ve çikolata tüketimine ilişkin verilecek olan önerilerde miktar/sıklık kontrolünün iyi yapılması önem taşımaktadır.

Çikolatanın yararlı etkilerinin yanı sıra kakao'nun etki ve etkileşim mekanizmalarının netleştirilmesine ihtiyaç vardır. Ancak, bu konuda yapılan çalışma sayısı yeterli değildir. Türkiye'deki kakao üreticilerinin yurt dışındakilere benzer şekilde biyoaktif bileşenlerden ve posadan zenginleştirilmiş, enerjisi ve yağ içeriği azaltılmış yeni kakao ürünlerinin geliştirilmesine teşvik edilmesi, bu ürünlerin yapılacak olan in vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda kullanılması açısından yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Lüscher TF. Cocoa and cardiovascular health. *Circulation* 2009;119(10):1433-41.
- Samancı Ö. [Food of the gods: chocolate]. *TSE Standard* 2012;(604):27-31.
- Dillinger TL, Barriga P, Escárcega S, Jimenez M, Lowe DS, Grivetti LE. Food of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *J Nutr* 2000;130(8S Suppl):2057-72.
- Khawaja O, Gaziano JM, Djousse L. Chocolate and coronary heart disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep* 2011;13(6):447-52.
- Maskarinec G. Cancer protective properties of cocoa: a review of the epidemiologic evidence. *Nutr Cancer* 2009;61(5):573-9.
- Ramiro-Puig E, Casadesu's G, Lee HG, Zhu X, McShea A, Perry G, et al. Neuroprotective effect of cocoa flavonoids on in vitro oxidative stress. *Eur J Nutr* 2009;48(1):54-61.
- Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am J Clin Nutr* 2005;81(3):611-4.
- Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Ryan A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008;48(9):840-57.
- Ramiro-Puig E, Castell M. Cocoa: antioxidant and immunomodulator. *Br J Nutr* 2009; 101(7):931-40.
- Steinberg FM, Bearden MM, Keen CL. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc* 2003; 103(2):215-23.
- Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 2003;51(25):7292-5.
- Selmi C, Cocchi CA, Lanfredini M, Keen CL, Gershwin ME. Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavonoids. *Mol Nutr Food Res* 2008;52(11):1340-8.
- Afoakwa EO. Industrial Chocolate Manufacture—Processes and Factors Influencing Quality. *Chocolate Science and Technology*. 1th ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2010. p.35-6.
- Anon 2015. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi. Kakao ve Çikolata Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2015/Taslak. p.7.
- Kurt E. [Chocolate production and an assessment in terms of halal food]. *TSE Standard* 2012; (604):94-101.
- Kaya A, Şekeröglü G. [Chocolate]. *TSE Standard* 2012;(604):22-5.
- Hammerstone JF, Lazarus SA, Mitchell AE, Rucker R, Schmitz HH. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 1999;47(2):490-6.
- Wollgast J, Anklam E. Review on polyphenols in theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Int* 2000;33(6):423-47.
- Khan N, Khymenets O, Urpi- Sardà M, Tulipani S, Garcia-Aloy M, Monagas M, et al. Cocoa polyphenols and inflammatory markers of cardiovascular disease. *Nutrients* 2014; 6(2):844-80.
- Arts IC, Hollman PC, Feskens EJ, Bueno de Mesquita HB, Kromhout D. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr* 2001;74(2):227-32.
- Arts IC, Jacobs DR Jr, Harnack LJ, Gross M, Folsom AR. Dietary catechins in relation to coronary heart disease death among postmenopausal women. *Epidemiology* 2001; 12(6):668-75.
- Osakabe N. Cacao Polyphenols Influence the Regulation of Apolipoproteins. In: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, eds. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Volume 2. USA: Academic Press; 2014. p.963-70.
- Keen CL, Holt RR, Oteiza PI, Fraga CG, Schmitz HH. Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *Am J Clin Nutr* 2005;81(1):298-303.
- Heiss C, Dejam A, Kleinbongard P, Schewe T, Sies H, Kelm M. Vascular effects of cocoa rich in flavan-3-ols. *JAMA* 2003;290(8):1030-1.
- Holt RR, Lazarus SA, Sullards MC, Zhu QY, Schramm DD, Hammerstone JF, et al. Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4 beta-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *Am J Clin Nutr* 2002;76(4):798-804.
- Fernández-Murga L, Tarin JJ, Garcia-Perez MA, Cano A. The impact of chocolate on cardiovascular health. *Maturitas* 2011;69(4):312-21.
- Şentürk T, Günay Ş. The mysterious light of dark chocolate. *Türk Kardiyol Dem Ars* 2015;43(2):199-207.
- Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab (Lond)* 2006;3:3:2.
- Nichols M, Townsend N, Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Scarborough P, et al (2012). *European Cardiovascular Disease Statistics 2012*. European Heart Network, Brussels, European Society of Cardiology, Sophia Antipolis. p.10-3.
- Hennekens CH. Increasing burden of cardiovascular disease: current knowledge and future directions for research on risk factors. *Circulation* 1998;97(11):1095-102.
- Onat A, Uğur M, Tuncer M, Ayhan E, Kaya Z, Küçükdemir Z, et al. [Age at death in the Turkish Adult

- Risk Factor Study: temporal trend and regional distribution at 56,700 person-years' follow-up]. *Arch Turk Soc Cardiol* 2009;37(3):155-60.
32. T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Kronik Hastalıklar Ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 909. Ankara: Anıl Matbaa Ltd Şti; 2013. p.191-204.
  33. Djoussé L, Hopkins PN, North KE, Pankow JS, Arnett DK, Ellison RC. Chocolate consumption is inversely associated with prevalent coronary heart disease: the National Heart, Lung and Blood Institute Family Heart Study. *Clinical Nutrition* 2011;30(2):182-7.
  34. Sarriá B, Martínez-López S, Sierra-Cinos JS, Garcia-Diz L, Goya L, Mateos R, et al. Effects of bioactive constituents in functional cocoa products on cardiovascular health in humans. *Food Chem* 2015;174:214-8.
  35. Martínez-López S, Sarriá B, Sierra-Cinos JL, Goya L, Mateos R, Bravo L. Realistic intake of flavanol-rich soluble cacao product increase HDL-cholesterol without inducing anthropometric changes in healthy and moderately hypercholesterolemic subjects. *Food Funct* 2014;5(2):364-74.
  36. Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Murayama T, Nakamura K, Wakatsuki Y, et al. Acute effect of oral flavanoid-rich dark chocolate intake on coronary circulation, as compared with non-flavonoid white chocolate, by transthoracic Doppler echocardiography in healthy adults. *Int J Cardiol* 2009;131(3):424-9.
  37. Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, et al. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. *J Nutr* 2008;138(9): 16716.
  38. Loke WM, Hodgson JM, Proudfoot JM, McKinley AJ, Puddey IB, Croft KD. Pure dietary flavonoids quercetin and (2)-epicatechin augment nitric oxide products and reduce endothelin-1 acutely in healthy men. *Am J Clin Nutr* 2008;88(4):1018-25.
  39. Coretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(2):257-65.
  40. Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *Am J Clin Nutr* 2005;81(1 Suppl):304-12.
  41. Widlansky ME, Gokce N, Keaney Jr JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(7):1149-60.
  42. Nanetti L, Raffaelli F, Tranquilli AL, Fiorini R, Mazzanti L, Vignini A. Effect of consumption of dark chocolate on oxidative stress in lipoproteins and platelets in women and in men. *Appetite* 2012;58(1): 400-5.
  43. Hermann F, Spieker LE, Ruschitzka F, Sudano I, Hermann M, Binggeli C, et al. Dark chocolate improves endothelial and platelet function. *Heart* 2006;92(1):119-20.
  44. West SG, McIntyre MD, Piotrowski MJ, Poupin N, Miller DL, Preston AG, et al. Effects of dark chocolate and cocoa consumption on endothelial function and arterial stiffness in overweight adults. *Br J Nutr* 2014;111(4):653-61.
  45. Taubert D, Berkels R, Roesen R, Klaus W. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. *JAMA* 2003;290(8):1029-30.
  46. Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Keen CL, Fraga CG. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by flavan-3-ols and procyanidins. *FEBS Lett* 2003;555(3):597-600.
  47. Actis-Goretta L, Ottaviani JI, Fraga CG. Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *J Agric Food Chem* 2006;54(1):229-34.
  48. Persson IA, Persson K, Hägg S, Andersson RG. Effects of cocoa extract and dark chocolate on angiotensin-converting enzyme and nitric oxide in human endothelial cells and healthy volunteers—a nutrigenomics perspective. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011;57(1):44-50.
  49. Taubert D, Roesen R, Schömig E. Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. *Arch Int Med* 2007;167(7):626-34.
  50. Muniyappa R, Hall G, Kolodziej TL, Kame RJ, Crandon SK, Quon MJ. Cocoa consumption for 2 wk enhances insulin-mediated vasodilatation without improving blood pressure or insulin resistance in essential hypertension. *Am J Clin Nutr* 2008;88(6): 1685-96.
  51. Taubert D, Roesen R, Lehmann C, Jung N, Schömig E. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007;298(1):49-60.
  52. Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D. Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Arch Intern Med* 2006;166(4):411-7.
  53. Engler MB, Engler MM. The vasculoprotective effects of flavanoid-rich cocoa and chocolate. *Nutrition Research* 2004;24(9):695-706.
  54. Galleano M, Oteiza PI, Fraga CG. Cocoa, chocolate and cardiovascular disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54(6):483-90.
  55. Rein D, Lotito S, Holt RR, Keen CL, Schmitz HH, Fraga CG. Epicatechin in human plasma: in vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. *J Nutr* 2009;130(8S Suppl):2109-14.
  56. Rein D, Paglieroni TG, Wun J, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, et al. Cocoa inhibits platelet activation and function. *Am J Clin Nutr* 2000;72(1):30-5.
  57. Mathur S, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I. Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. *J Nutr* 2002;132(12):3663-7.
  58. Osakabe N, Baba S, Yasuda A, Iwamoto T, Kamiyama M, Tokunaga T, et al. Dose-response study of daily cocoa intake on the oxidative susceptibility of low-density lipoprotein in healthy human volunteers. *J Health Sci* 2004;50(6):679-84.
  59. Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T, et al. Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 2007;85(3):709-17.
  60. Ibero-Baraibar I, Abete I, Navas-Carretero S, Massis-Zais A, Martinez JA, Zulet MA. Oxidised LDL levels decrease after the consumption of ready-to-eat meals supplemented with cocoa extract within a hypocaloric diet. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24(4):416-22.
  61. Grassi D, Ferri C, Cocoa, flavanols and cardiovascular protection. In: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, eds. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Volume 2. USA: Academic Press; 2014. p.1009-23.
  62. De Araujo QR, Gattward JN, Almoosawi S, Silva Md, Dantas PA, De Araujo Júnior QR. Cocoa and human health: from head to foot—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2016;56(1):1-12.
  63. Bonanome A, Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Engl J Med* 1988;318(19):1244-8.
  64. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;77(5):1146-55.
  65. Borisssoff JI, Spronk HM, ten Cate H. The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011;364(18): 1746-60.
  66. Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (Theobroma cacao) inhibit platelet function. *Am J Clin Nutr* 2003;77(6): 1466-73.
  67. Flammer AJ, Hermann F, Sudano I, Spieker L, Hermann M, Cooper KA, et al. Dark chocolate improves coronary vasomotion and reduces platelet reactivity. *Circulation* 2007; 116(21):2376-82.
  68. Camevale R, Loffredo L, Pignatelli P, Nocella C, Bartimoccia S, Di Santo S, et al. Dark chocolate inhibits platelet isoprostanes via NOX2 down-regulation in smokers. *J Thromb Haemost* 2012;10(1):125-32.
  69. Cannon RO. Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin Chem* 1998;44(8 Pt 2): 1809-19.
  70. Heiss C, Kleinbongard P, Dejam A, Perré S, Schroeter H, Sies H, et al. Acute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol* 2005;46(7):1276-83.
  71. Mao TK, Powell J, Van De Water J, Keen CL, Schmitz HH, Hammerstone JF, et al. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 beta in peripheral blood mononuclear cells. *Life Sci* 2000;66(15):1377-86.
  72. di Giuseppe R, Di Castelnuovo A, Centritto F, Zito F, De Curtis A, Costanzo S, et al. Regular consumption of dark chocolate is associated with low serum concentrations of C-reactive protein in a healthy Italian population. *J Nutr* 2008;138(10):1939-45.
  73. Ellam S, Williamson G. Cocoa and human health. *Annu Rev Nutr* 2013;33:105-28.
  74. Allgrove J, Davidson G. Dark chocolate/cocoa polyphenols and oxidative stress. In: Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, eds. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Volume 1. USA: Academic Press; 2014. p.241-51.
  75. Gu Y, Yu S, Lambert JD. Dietary cocoa ameliorates obesity-related inflammation in high fat-fed mice. *Eur J Nutr* 2014;53(1):149-58.
  76. Tomaru M, Takano H, Osakabe N, Yasuda A, Inoue K, Yanagisawa R, et al. Dietary supplementation with cacao liquor procyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice. *Nutrition* 2007;23(4):351-5.
  77. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to cocoa flavanols and maintenance of normal endothelium-dependent vasodilation pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2012;10(7):2809.
  78. Andújar I, Recio MC, Giner RM, Rios JL. Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:906252.