

بررسی اثر مواجهه توأم با استرس گرمایی و روانی بر سطح سرمی تستوسترون در موش‌های صحرائی نر

فائزه عباسی بلوچخانه^۱ (M.Sc.)، سمیه فرهنگ دهقان^{۲*} (Ph.D.)، عباس حق پرست^۳ (Ph.D.)، نورالدین قراری علی بابالو^۴ (Ph.D.)، سهیلا خداکریم اردکانی^۴ (Ph.D.)

۱- گروه بهداشت حرفه ای و ایمنی کار، دانشکده بهداشت و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات کنترل عوامل زیان آور محیط و کار، دانشکده بهداشت و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱

somayeh.farhang@gmail.com

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۰۴۰۰

چکیده

هدف: در این مطالعه به بررسی اثر مواجهه توأم استرس گرمایی به عنوان یک عامل استرس محیطی و استرس روانی بر سطح سرمی هورمون تستوسترون در موش‌های صحرائی نر پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۴۰ عدد موش سالم صحرائی نر بالغ و بیستار طی دوره ۴۰ روزه انجام شد. موش‌ها به صورت مساوی و به طور تصادفی به سه گروه مواجهه و یک گروه شاهد تقسیم شدند. موش‌ها در گروه مواجهه با استرس گرمایی در معرض مواجهه با دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲۰ درصد قرار گرفتند. گروه مواجهه با استرس روانی در معرض سه نوع استرس شامل نور استروب، شیب‌دار نمودن قفس و پخش صدا قرار گرفتند. گروه توأم نیز روزانه مطابق ترتیب مذکور هر دو نوع مواجهه را تجربه می‌نمودند. سپس، میزان هورمون تستوسترون در همه گروه‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد، گروه مواجهه توأم ($4/20 \text{ ng/ml} \pm 1/15$) از سطح هورمونی کم‌تری نسبت به دو گروه‌های مواجهه که به صورت جداگانه در معرض استرس گرمایی ($4/35 \text{ ng/ml} \pm 1/15$) و روانی ($4/98 \text{ ng/ml} \pm 1/51$) قرار گرفتند، برخوردار بودند. این در حالی است که میزان سطح هورمون گروه شاهد $5/41 \text{ ng/ml} \pm 1/69$ بود. نتایج واریانس تک‌متغیره نشان داد گروه مواجهه توأم بیش‌ترین میزان اختلاف سطح هورمون را نسبت به گروه شاهد و بزرگ‌ترین اندازه اثر را دارد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، استرس گرمایی و روانی هر کدام می‌توانند بر سطح هورمون تستوسترون به عنوان یکی از مؤلفه‌های تولید مثلی تأثیرگذار باشند. با این حال مواجهه توأم با این دو نوع عامل استرس‌زا ممکن است به اثرات حادتری بر روی سطح هورمون مورد بررسی منجر شود.

واژه‌های کلیدی: اختلال استرس گرمایی، فشار روانی، تستوسترون، موش‌های صحرائی

مقدمه

در محیط‌زیست و محیط‌های کاری، عوامل خطر ساز مختلفی برای سلامتی افراد وجود دارد [۳]. عواملی که بدن را از حالت تعادل و نرمال خود خارج می‌کنند، را عوامل استرس‌زا می‌گویند و یکی از این عوامل استرس‌زای محیطی، گرما است [۴]. فرد در مواجهه با این عامل زیان‌آور واکنش نشان می‌دهد و این واکنش به صورت اختلال در فرایند ارگان‌ها بروز می‌نماید [۵]. مواجهه با گرما به دو صورت حاد و مزمن اتفاق می‌افتد که مواجهه حاد می‌تواند منجر به افزایش دمای عمقی بدن شده و مستقیماً منجر به بیماری‌های ناشی از گرما نظیر راش‌های خفیف گرمایی، کرامپ‌های عضلانی، خستگی گرمایی

بقای نسل یک عامل حیاتی و مهم است که به تولید مثل بستگی دارد و تولید مثل مهم‌ترین ویژگی موجودات زنده است که آن‌ها را از موجودات بی‌جان متمایز می‌کند. از طرفی در چند دهه گذشته، تحقیقات در مورد مواجهه شغلی و اثرات آن بر سیستم‌های تولید مثل به صورت چشم‌گیری گسترش یافته است. بر طبق آمار گزارش شیوع طول عمر ناباروری بین ۶/۶ درصد تا ۴/۲۶ درصد و میانگین شیوع یک ساله آن حدود ۹ درصد و شیوع ناباروری در ایران در رنج ۱۰/۳-۲۴/۹ درصد تخمین زده شده است [۱، ۲].

جنسی مد نظر مطالعه یافت نشد. در نتیجه این مطالعه برای اولین بار به بررسی اثر مواجهه توأم با استرس گرمایی به عنوان یکی از شایع‌ترین انواع عوامل زیان‌آور فیزیکی محیط‌های کاری و استرس روانی که امروزه بسته به تغییر الگوهای زندگی و شرایط کاری در بین شاغلین شیوع بالایی یافته است، بر روی سطوح سرمی هورمون‌های تستوسترون به عنوان نماینده هورمون‌های جنسی در قالب یک مطالعه درون تتی (in vivo) بر روی موش‌های صحرایی نر انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

حجم نمونه. این مطالعه بر روی ۴۰ عدد موش سالم صحرایی نر بالغ با نژاد ویستار و وزن تقریبی 250 ± 70 گرم و سن ۷۴-۵۶ روز انجام شد [۱۶]. با حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار محاسبه توان و حجم نمونه (Power and Sample Size Calculation Software version 3.1.2) با لحاظ نمودن توان مطالعه ۹۵ درصد و بر اساس میانگین و انحراف معیار مطالعات قبلی [۱۷] در این زمینه و فرمول تعیین حجم نمونه (فرمول شماره ۱)، حداقل تعداد نمونه‌های مورد نیاز هر گروه حدود ۸-۶ موش تعیین گردید. اما به دلیل احتمال از دست رفتن نمونه‌ها حین مطالعه در هر گروه ۱۰ رت مورد استفاده قرار گرفت و در مجموع ۴۰ عدد رت وارد مطالعه شدند:

فرمول ۱:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (S_1^2 + S_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

S_1 : انحراف معیار متغیر مورد مطالعه در گروه اول (مواجهه یافته)

S_2 : انحراف معیار متغیر مورد مطالعه در گروه دوم (شاهد)

μ_1 : میانگین متغیر مورد مطالعه در گروه اول

μ_2 : میانگین متغیر مورد مطالعه در گروه دوم

شرایط نگهداری نمونه. مطالعه حاضر از نوع تجربی می‌باشد. در شروع آزمایش وزن تمامی موش‌ها ثبت شد و تمامی موش‌ها در قفس‌های جداگانه با امکان تنظیم و پایش دما و رطوبت هوا نگهداری شدند. سیکل تاریکی و روشنایی و غذای کافی در طول آزمایش برای موش‌ها فراهم شد. شرایط نگهداری آن‌ها به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی و هم‌چنین دمای هوا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۳۵ تا ۴۰ درصد و میزان صدای زمینه کم‌تر از ۳۵ دسی‌بل و دسترسی آزاد به غذای مخصوص (پلت‌های آماده سبوس برنج) و آب نگهداری شدند. هم‌چنین این طرح با کد اخلاق IR.SBMU.PHNS.REC.1399.074 در کمیته اخلاق دانشکده بهداشت و ایمنی شهید بهشتی تصویب شده است.

تا شوک‌های گرمایی تهدیدکننده سلامت شود و تأثیر مواجهه مزمن با گرما نیز شامل بیماری‌های قلبی-عروقی، تأثیر بر سیستم تولید مثل و بیماری‌های کلیوی می‌باشد [۶-۸].

در سیستم تولید مثل آقایان، هورمون‌های جنسی نقش بسزایی ایفا می‌نمایند. هورمون تستوسترون تحریک‌کننده فولیکول و هورمون لوتئین‌کننده توسط غده هیپوفیز واقع در پایه مغز تولید می‌شوند. تستوسترون در رشد و بروز خصوصیات ثانویه مردانه از جمله افزایش توده عضلانی، توزیع چربی، توده استخوانی و میل جنسی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۹،۱۰]. از طرفی دیگر، مطالعات نشان داده شده است که سنتز تستوسترون توسط بیضه توسط عوامل استرس‌زا قابل سرکوب است [۱۱].

استرس روانی بخش مهمی از جامعه امروز را تشکیل می‌دهد و بسیاری از عوامل محیطی (به عنوان مثال شرایط آب و هوا، آلاینده‌های هوا و سموم)، پیشرفت‌های فناوری (به عنوان مثال، رایانه‌ها، تلفن‌های همراه هوشمند و صنعتی شدن سریع) و تغییر در شیوه و سبک زندگی (مانند کاهش فعالیت در فضای باز و به طور کلی فعالیت فیزیکی) میزان بروز این نوع استرس را تحت تأثیر قرار داده‌اند [۱۲]. استرس به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن مغز مقدار تحریک را بیش از اندازه و یا کیفیت تحریک را تهدیدکننده ارزیابی می‌نماید. در واقع استرس به عنوان یک پاسخ غیر اختصاصی به محرک‌های مختلف استرس‌زا وارد به بدن است. یک عامل استرس‌زا ممکن است اثرات متفاوتی را در افراد مختلف ایجاد کند [۱۳]. یکی از اثرات استرس می‌تواند به آسیب سیستم تولید مثلی اشاره نمود که مطالعات پیشین حاکی از آن است که استرس می‌تواند سبب کاهش [۱۴] و گاهاً افزایش [۱۵] سطح هورمون تستوسترون شود.

شاغلین در محیط‌های کاری می‌توانند در معرض خطر انواع استرس‌های محیطی و عوامل استرس‌زای روانی قرار بگیرند، که هر یک بسته به ماهیت استرس و شرایط مواجهه می‌تواند پیامدهای سوء سلامتی برای افراد در معرض مواجهه به همراه داشته باشند. معمولاً در بررسی عوارض و اختلالات ناشی از مواجهه با این استرس‌ها، اثرات انفرادی آن‌ها مد نظر قرار می‌گیرد. هم‌چنین در این خصوص نتایج متناقض اهم در خصوص کاهش و افزایش سطح هورمون تستوسترون در مواجهه با استرس روانی وجود دارد. علاوه بر آن، مطالعات کم‌تری می‌توان یافت که به بررسی اثر توأم این استرس‌ها توجه داشته باشد، به گونه‌ای که در بازنگری منابع در هیچ مطالعه‌ای بررسی توأم اثر استرس روانی و گرمایی بر سطح هورمون

پروتکل گفته شده از طریق نور استروب، شیب‌دار نمودن قفس و پخش صدا در معرض استرس روانی قرار گرفتند.

گروه چهارم (شاهد): در این گروه موش‌ها تحت تأثیر هیچ یک از استرس‌های گرمایی و روانی قرار نداشته و در شرایط آسایش حرارتی و روانی نگهداری می‌شدند.

جهت بررسی سلامتی از جنبه روانی و رفتاری، در ابتدا و قبل از مواجهه از موش‌ها و هم‌چنین در انتهای دوره مواجهه، آزمون ترجیح ساکارز (Sucrose preference test) گرفته شد [۲۰]. هم‌چنین جهت اثبات وجود استرس روانی در طی روزهای مواجهه، در روزهای دهم، بیستم و پنجم، سی و پنجم به صورت تصادفی سه موش صحرایی با دستگاه ماز مرتفع مورد بررسی قرار گرفتند [۲۲].

آزمون ترجیح ساکارز. برای انجام این آزمون از دو ظرف، یکی محتوی آب و دیگری محتوی ساکارز ۲ درصد استفاده شد. جهت کاهش دادن پاسخ استرسی به شرایط جدید، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون به مدت ۳ ساعت به موش اجازه داده شد به طور آزادانه بین دو بطری یکی را برای نوشیدن انتخاب کنند. بعد از خو گرفتن به محیط، مدت زمان آزمون ۴ روز، روزی ۸ ساعت بود. در مدت آزمون، موش می‌توانستند آزادانه یکی از بطری‌ها (آب یا محلول ساکارز) را برای نوشیدن انتخاب کنند. در طی این مدت برای پیشگیری از احتمال خطا در آزمون جای ظرف آب و ساکارز هر ۱۲ ساعت تعویض می‌شد. بطری‌ها در ابتدا و انتهای هر دوره ۸ ساعته وزن می‌شدند تا میزان مصرف از آن‌ها محاسبه شود و در پایان چهارمین روز، نسبت ساکارز به کل حجم مصرفی سنجیده می‌شد. به طور کلی موش‌هایی که از نظر سلامتی روانی دارای مشکل هستند تمایل کم‌تری برای مصرف ساکارز دارند. در نتیجه می‌توان این آزمون را برای تأیید سلامتی روانی موش‌ها در نظر گرفت [۲۰].

آزمون ماز مرتفع. آزمون ماز مرتفع برای ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب در مدل‌های جانوری با اختلالات سیستم عصبی مرکزی استفاده شد. دستگاه ماز مرتفع از یک ماز به شکل بعلاوه تشکیل شده که در ارتفاعی بالاتر از کف زمین قرار دارد. این ماز دارای چهار بازو و یک ناحیه مرکزی است که دو بازوی آن باز و دو بازوی دیگر بسته می‌باشد. موش‌ها را به مدت ۵ دقیقه داخل ماز گذاشته شدند به طوری که می‌توانستند آزادانه بازوهای آن را جست‌وجو کنند. رفتار حیوان مورد آزمایش توسط یک دوربین فیلم‌برداری که در بالای دستگاه نصب شده بود، ثبت و آنالیز می‌شد. در پایان آزمون، درصد میزان زمانی که حیوان در بازوهای باز طی می‌کردند نسبت به زمانی که در بازوهای بسته می‌گذراندند محاسبه می‌شد.

طراحی محفظه مطالعه. محفظه مواجهه از جنس پلاکسی‌گلاس (با قابلیت مشاهده قسمت‌های درونی آن) و با ابعاد ۵۰×۵۲×۱۵۰ سانتی‌متر (با ظرفیت ۱۰ رت) طراحی و ساخته شد. این اتاقک باید به گونه‌ای طراحی شد که جریان هوا در آن به صورت دینامیک و قابل تنظیم بود و هم‌چنین دما و رطوبت ثابت را نگه می‌داشت. در این محفظه دو عدد هیتر (گرمکن)، یک عدد نبولایزر (بخارساز) و دو عدد فن (هواکش) به کار برده شد. هم‌چنین جهت ایجاد استرس روانی از لامپ چشمک زن (۶۰ با در یک دقیقه)، اسپیکر (پخش صدا) و نرم‌افزار Online Tone Generator جهت ایجاد صدای اولتراسونیک استفاده شد.

شرایط مواجهه. موش‌ها به صورت مساوی و به طور تصادفی به چهار گروه متشکل از یک گروه شاهد و سه گروه مواجهه با استرس گرمایی، روانی و مواجهه توأم تقسیم شدند. سه نوع مواجهه با استرس گرمایی، روانی و توأم به مدت زمان ۴۰ روز به صورت متوالی ایجاد شد. در گروه‌های مواجهه با استرس روانی ترتیب نوع استرس در روزهای متوالی متفاوت بود. شرایط مواجهه روزانه برای چهار گروه به ترتیب زیر فراهم گردید:

گروه اول (استرس گرمایی): در این گروه موش‌ها به مدت ۴۰ روز و هر روز به مدت ۲ ساعت در معرض مواجهه با استرس گرمایی قرار گرفت [۱۸]. میزان استرس گرمایی با توجه به دو پارامتر دمای خشک و رطوبت نسبی بر اساس شاخص دما-رطوبت (THI) Temperature Humidity Index (THI) که شاخص ارزیابی استرس گرمایی حیوانات است استفاده شد [۱۹]. شاخص THI، شیوه ساده و سریعی برای ارزیابی تأثیرات استرس گرمایی بر موجودات زنده است. در این شاخص از دو متغیر دما و رطوبت استفاده می‌شود و زمانی که مقدار آن بالای ۷۰ باشد بیانگر آن است که حیوان مورد نظر دچار استرس گرمایی شده است. در این مطالعه دمای مورد نظر ۳۶ درجه سانتی‌گراد و ۲۰ درصد رطوبت قرار دادیم که شاخص مد نظر ۷۵/۵۰ به دست آمد.

گروه دوم (استرس روانی): در این گروه موش‌های صحرایی تحت تأثیر سه نوع استرس روانی شامل نور استروب یا چشمک زن (Strobe light) (روزانه ۱۵ دقیقه)، شیب‌دار نمودن قفس (۴۵ درجه - روزانه ۱۵ دقیقه) و پخش صدا اولتراسونیک (تراز صدا ۸۰ دسی‌بل، فرکانس ۲۰۰۰۰ هرتز - روزانه ۱۵ دقیقه) قرار می‌گرفت (شکل ۱). فاصله زمانی بین هر یک از این انواع استرس‌ها حداقل ۱ ساعت در نظر گرفته شده بود [۲۱، ۲۰].

گروه سوم (مواجهه توأم): در این گروه روزانه موش‌ها به مدت ۲ ساعت در معرض مواجهه با استرس گرمایی و مطابق

بطری آب، آب و ساکاروز به ترتیب ۳/۳، ۷۵/۲ میلی گرم بوده و ترجیح ساکاروز در کل برابر با ۴/۳ می باشد که نتایج حاکی از آن است که مصرف بطری آب و ساکاروز بیش تر از بطری آب هستند. در نتیجه موش های صحرایی دارای حالات روحی مناسب وارد مطالعه شدند. هم چنین نتایج آزمون ماز مرتفع برای گروه مواجهه با استرس روانی در روزهای دهم، بیستم و پنجم، سی و پنجم نشان داد که ۱۶۵، ۱۹۰ و ۲۱۰ ثانیه (میزان کل = ۳۰۰ ثانیه) در بازوی بسته بوده است. هم چنین نتایج آزمون ماز مرتفع برای گروه مواجهه توأم در روزهای دهم، بیستم و پنجم، سی و پنجم نشان داد که ۱۴۸، ۲۲۰ و ۲۴۶ ثانیه در بازوی بسته بوده است که نشان دهنده آن است که دو گروه مواجهه استرس روانی و مواجهه توأم بیش تر در وضعیت بازو بسته بوده اند و زمان کمتری را به جست و جو در بازوهای باز پرداختند. در نتیجه دو گروه به گونه ای استرس روانی را تجربه کرده اند.

در ابتدا غیر نرمال بودن داده ها این مطالعه توسط آزمون شاپیرو تائید شد. نتایج حاکی از آن است که، گروه مواجهه توأم ($4/1 \pm 20/15$ ng/ml) از سطح هورمونی کمتری نسبت به دو گروه های مواجهه که به صورت جداگانه در معرض استرس گرمایی ($4/1 \pm 35/15$ ng/ml) و روانی (1 ± 51 ng/ml) قرار گرفتند، دارا بودند. این در حالی است که میزان سطح هورمون گروه شاهد $5/1 \pm 41/69$ ng/ml بوده است. اگرچه از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده نشد ($P\text{-value} > 0/05$). نتایج میانگین سطح هورمون تستوسترون در چهار گروه شاهد، مواجهه با استرس روانی، مواجهه با استرس گرمایی و مواجهه توأم در جدول ۱ نمایش داده شده است.

در شکل ۲، توزیع میزان هورمون تستوسترون به تفکیک گروه های مطالعه نشان داده شده است. در این شکل گروه اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب مواجهه با استرس روانی، استرس گرمایی، توأم و شاهد را بیان می کند. همان طور که این شکل نشان می دهد، گروه مواجهه با استرس روانی سطح بالاتری از هورمون را نسبت به دو گروه مواجهه دیگر داشته و نزدیک تر به سطح شاهد است. از طرف دیگر، گروه مواجهه با توأم، پایین ترین سطح هورمون را نسبت به سطح شاهد دارا می باشد. نتایج آزمون دانت نشان داد (جدول ۲) که هیچ تفاوت معنی داری از نظر میانگین تستوسترون بین هر یک از گروه های مواجهه و شاهد مشاهده نمی شود. مقدار تفاوت نیز فقط در گروه مواجهه توأم به اندازه ۱/۲ واحد کم تر از گروه شاهد می باشد. یا به عبارت دیگر، گروه مواجهه توأم ($P\text{-value} = 0/17$)

حیوانات مضطرب ترجیح می داند بیش تر در بازوهای بسته بمانند و زمان کمتری را به جست و جو در بازوهای باز بپردازند [۲۲].



شکل ۱. موش های صحرایی تحت تأثیر دو نوع استرس روانی شامل شیب دار نمودن قفس و پخش صدا

آنالیز هورمونی. سپس جهت بررسی میزان تستوسترون از رت های نر در چهار گروه، نمونه خون بعد از پایان آخرین روز مواجهه گرفته شد و جهت آنالیزهای بعدی فریز گردیدند. برای خون گیری، ابتدا موش ها با تزریق مواد کتامین و زایلازین به بی هوشی عمیق فرو رفتند و سپس ۵ سی سی خون از بطن چپ قلب موش ها گرفته شد. خون گیری بین ساعت ۸ - ۷ صبح انجام شد. نمونه های خون بلافاصله در فالکن های ۱۵ سی سی ریخته شدند و سپس در باکس یخ به آزمایشگاه منتقل، و در آن جا سرم نمونه های خون جدا شد و در دمای -20 درجه سانتی گراد نگهداری شدند کیت های مورد استفاده کیت های الایزا (Monobind Inc; USA) بود و از روش های رنگ سنجی (اسپکتروفتومتری) جهت انجام این آزمایشات استفاده شد که تمام این روش ها توسط دستگاه تمام اتوماتیک الایزا ریدر (Stat Fax 4200; BioTek Instruments; USA) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری. داده های این مطالعه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ مورد آنالیز آماری قرار گرفت. نتایج توصیفی به صورت میانگین، انحراف معیار و دامنه بیان شده است. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده از آزمون شاپیرو استفاده شد. جهت مقایسه میان سطح هورمونی گروه های مورد مطالعه از آزمون کروسکال والیس و برای مقایسه میانگین سطح هورمونی هر یک از گروه های مواجهه با گروه شاهد آزمون دانت استفاده شد. جهت تعیین اندازه اثر نوع مواجهه بر متغیر مورد مطالعه از آنالیز واریانس یک متغیره استفاده شد. سطح معنی داری $0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

میانگین وزنی گروه های شاهد، مواجهه با استرس روانی، مواجهه با استرس گرمایی و گروه مواجهه توأم به ترتیب $275 \pm 17/6$ ، $260 \pm 22/2$ ، $273 \pm 16/2$ و $260 \pm 20/2$ گرم بود. نتایج آزمون ساکاروز نشان داد که میانگین مصرف

جدول ۲. مقایسه دو به دو سطح هورمون تستوسترون (ng/ml)

گروه‌های مواجهه با گروه کنترل

P.value	تفاوت میانگین با گروه شاهد	گروه
۰/۸۵	-۰/۴۲	مواجهه با استرس روانی
۰/۲۵	-۱/۰۵	مواجهه با استرس گرمایی
۰/۱۷	-۱/۲۰	مواجهه توأم

*سطح معناداری $P\text{-value} < 0/05$

جدول ۳. میزان ضریب تأثیر نوع مواجهه بر پارامترهای مورد مطالعه

P.value	B	متغیر
۰/۵۹	-۰/۴۲	گروه مواجهه استرس روانی
۰/۱۴	-۱/۰۵	گروه مواجهه استرس گرمایی
۰/۱۰	-۱/۲۰	گروه مواجهه توأم

*سطح معناداری $P\text{-value} < 0/05$

کم‌ترین و گروه مواجهه با استرس روانی ($P\text{-value}=0/85$)
بیش‌ترین میزان P-value را به خود اختصاص دادند.

جدول ۱. سطح هورمون تستوسترون (ng/ml) در چهار گروه مورد

مطالعه

P-value	دامنه بین چارکی (IQR)	انحراف معیار	میانگین	سرنجه	
				گروه	شاهد
۰/۳۴۳	۲/۶۶	۵/۶۴	۱/۶۹	۵/۴۱	شاهد
	۲/۷۱	۴/۳۵	۱/۵۱	۴/۹۸	مواجهه با استرس روانی
	۱/۹۷	۳/۹۱	۱/۱۵	۴/۳۵	مواجهه با استرس گرمایی
	۱/۸۱	۳/۸۴	۱/۱۵	۴/۲۰	مواجهه توأم

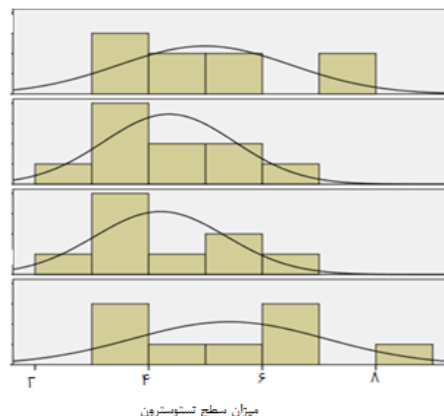
*سطح معناداری $P\text{-value} < 0/05$

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، مواجهه با استرس گرمایی و روانی ممکن است سبب کاهش سطح هورمون تستوسترون موش‌های صحرایی مورد مطالعه شده است. همچنین توزیع میزان این هورمون به تفکیک گروه‌های مطالعه نشان داد که گروه مواجهه با استرس روانی نسبت به دو گروه مواجهه دیگر دارای سطح تستوسترون ($4/98 \text{ ng/ml} \pm 1/51$) بالاتری بودند و این نوع مواجهه کم‌ترین اثر ($B = -0/428$) را روی سطح هورمون مورد بررسی داشته است، اگرچه این نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبودند. استرس گرمایی اندازه اثر بزرگ‌تری را بر سطح هورمون تستوسترون نسبت به استرس روانی از خود نشان داد ($B = -1/05$). از طرفی دیگر، نتایج نشان داد گروه مواجهه توأم ($4/20 \text{ ng/ml} \pm 1/15$) که در معرض دو استرس گرمایی و روانی قرار گرفتند از سطح هورمونی کم‌تری نسبت به دو گروه‌های مواجهه با استرس گرمایی ($4/35 \text{ ng/ml} \pm 1/15$) و روانی برخوردار بودند و این نوع مواجهه بیش‌ترین اثر ($-1/20$) را روی سطح هورمون تستوسترون داشته است. با این حال هیچ تفاوت معنی‌داری از نقطه نظر سطح هورمون تستوسترون بین گروه‌های مواجهه و شاهد مشاهده نشد.

مطالعات پیشین، حاکی از آن است که دما نقش مهمی در تولید مثل موجودات زنده ایفا می‌کند و عدم تنظیم حرارت بیضه می‌تواند باعث افزایش دمای بیضه شده که منجر به استرس گرمایی سیستم تناسلی شود و این اختلال برای اسپرماتوژنز بسیار مضر است [۲۳]. همچنین نتایج مطالعات حیوانی حاکی از آن است که گرما در جنس نر، فعالیت اسپرماتوژنیک را کاهش می‌دهد [۲۴]. در این همین راستا، نتایج مطالعه اکتاس و همکارانش نشان داد، تعداد سلول‌های لایدیگ با تستوسترون

گروه‌های مورد مطالعه



شکل ۲. توزیع میزان هورمون تستوسترون (ng/ml) به تفکیک گروه‌های مطالعه

نتایج آنالیز واریانس یک متغیره را به منظور تعیین اندازه اثر نوع مواجهه بر سطح هورمون تستوسترون نشان می‌دهد. مطابق جدول ۳، گروه توأم بالاترین اندازه اثر ($B = -1/20$) داشته در نتیجه می‌توان گفت در نتیجه می‌توان گفت در صورت مواجهه توأم استرس گرمایی و روانی، شانس این‌که سطح هورمون تستوسترون نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کند به میزان $1/2$ برابر است ($P\text{-value}=0/10$). برای مشخص کردن اهمیت هر یک از متغیرها و نقش آن‌ها در مدل رگرسیونی، باید به ستون Standardized Coefficients یا ضرایب استاندارد شده ($Beta/B$) توجه کرد. متغیری که ضریب استاندارد بزرگ‌تری دارد، نقش موثرتری در پیش‌بینی متغیر وابسته (سطح هورمون) خواهند شد.

با استرس روانی هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه‌ای توسط آرون و همکارانش در سال ۲۰۱۶، نشان داد که سطح هورمون تستوسترون در گروه دریافت‌کننده استرس مزمن به طور معناداری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است که از نقطه نظر معنی‌داری، با نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا نیست. تفاوت این موضوع را می‌توان به نوع استرس روانی (استفاده از یک قفس محدودکننده به مدت ۴ ساعت در روز به مدت ۴۲ روز متوالی) مورد استفاده، حجم نمونه متفاوت و ساعت‌های مواجهه طولانی‌تر نسبت داد [۱۵]. در مطالعه دیگر نشان داده شد که مواجهه با استرس روانی سبب کاهش معنی‌داری در سطح پلازما تستوسترون می‌شود، در نتیجه مواجهه با استرس سبب آسیب در بیضه خواهد شد [۱۷].

با این حال همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد در بررسی متون، مطالعه‌ای یافت نشد که بررسی مواجهه توأم استرس روانی و گرمایی پرداخته باشد تا از این حیث، بتوان نتایج مطالعه حاضر را با مطالعات مشابه مقایسه نمود. اما آنچه که نتیجه این مطالعه نشان داد استرس گرمایی اثر بیش‌تری نسبت به استرس روانی بر سطح هورمون تستوسترون داشته و مواجهه توأم با این دو عامل استرس‌زا، تغییرات بیش‌تری را بر سطح این هورمون سبب می‌شود، اگرچه این نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبودند.

با توجه با مطالب می‌توان بیان نمود که گرمای بیش از حد به عنوان یک عامل زیان‌آور فیزیکی در محیط‌های کاری از دیرباز مورد اهمیت بوده و سلامت پرسنل از جنبه‌های مختلف تهدید می‌نموده است. استرس گرمایی به عنوان یک مخاطره انکارناپذیر در محیط‌های کاری به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه مطرح بوده و از جمله مشاغلی که با گرما مواجه دارند می‌توان به صنایع ریخته‌گری، آهن و فولاد، ذوب آهن، شیشه و سرامیک‌سازی، ناوایی‌ها، آشپزخانه‌های تجاری و صنایع آجر اشاره نمود که به صورت روزانه در معرض گرمای حاصل از فرایندهای کاری و در مشاغل روباز در فصول گرم در معرض مواجهه با استرس گرمایی اتمسفری قرار می‌گیرند [۳]. بدن افراد به استرس گرمایی واکنش می‌دهد و این واکنش به صورت اختلال در فرایند ارگان‌ها مانند تغییرات سطح هورمونی بروز می‌نماید [۵]. مطالعات نشان می‌دهد که استرس گرمایی می‌تواند دستگاه تولید مثل انسان و حیوانات را تحت تأثیر قرار دهد [۲۹، ۳۰] که در مطالعه حاضر نیز این اثر مشهود بود. در همین راستا، مطالعات نشان داده شده است که سنتز تستوسترون توسط بیضه در پاسخ به فاکتورهای سیگنالینگ موضعی مستقل از سیگنالینگ مغزی تغییر می‌کند [۳۱] سطح تستوسترون هم توسط عوامل استرس‌زا مثل گرما قابل سرکوب است [۱۱]. این کاهش ممکن است از طریق اثرات سرکوب‌کننده

مثبت در گروه‌های با هایپرترمی اسکروتوم نسبت به گروه شاهد، کاهش یافته و همچنین این پژوهشگران بالاتر بودن دما از دمای نرمال بدن را دلیلی بر آسیب سلول‌های لایدیگ و به عنوان عامل مؤثر در ناباروری عنوان کردند [۲۵]. هم‌چنین مطالعه‌ای توسط چن و همکارش در سال ۲۰۱۸ انجام شد که در این مطالعه به بررسی استرس گرمایی بر میزان هورمون تستوسترون موش صحرایی نر پرداخت. در این مطالعه که در دو گروه شاهد (۲۲ درجه سانتی‌گراد) و مواجهه (۴۰ درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که در طول مواجهه با استرس گرمایی، پاسخ سریع هیپرترومیک به گرما در موش‌های نر مورد مطالعه وجود ندارد. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین مقادیر هورمون تستوسترون در گروه شاهد و غلظت تستوسترون پلازما در گروه مواجهه مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد [۲۶]. مطالعه دیگری توسط گائو و همکارانش در سال ۲۰۱۲ انجام شد تا اثر استرس گرمایی را روی اسپرماتوزن رت‌هایی که تحت تأثیر استرس حرارتی اسکروتال قرار گرفتند، بررسی شود. این مطالعه دارای گروه شاهد (دمای ۲۲ درجه) و گروه تحت استرس گرمایی (دمای ۴۳ درجه) بودند. در این مطالعه نتایج نشان داد که سطح سرمی تستوسترون بعد از استرس گرمایی و هم‌چنین بین گروه‌های مختلف مطالعه تفاوت معنی‌دار ندارد [۲۷]، که از این جنبه با نتایج مطالعه حاضر همسو است. در مطالعه دیگر که برای اعمال استرس گرمایی، موش‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۴۰ درجه قرار گرفتند، نشان داده شد که اختلاف معناداری بین سطح هورمون تستوسترون گروه شاهد با گروه مواجهه با گرما وجود دارد که با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد که دلایل آن را می‌توان به تفاوت در نوع روش اعمال استرس گرمایی و سطح دما اشاره نمود [۲۸].

مطالعاتی در راستای نتایج اثر استرس روانی بر هورمون تستوسترون انجام شده است از جمله این مطالعات می‌توان به ریبریو و همکارانش اشاره نمود. پژوهشگران این مطالعه در ۲۰۱۸ به بررسی تأثیرات آنی و مزمن استرس روانی در عملکرد بیضه موش‌های صحرایی در دو گروه پیش از بلوغ و بزرگسالان پرداختند. بر اساس نتایج این مطالعه سطح تستوسترون فقط در گروه بزرگسالان که در معرض استرس مزمن بودند تغییر یافت. گروه رت بزرگسال که به مدت ۱۰ هفته تحت استرس بودند در مقایسه با گروه شاهد بزرگسال، کاهش ۲۱ درصد در سطح تستوسترون نشان دادند [۱۴]. در نتیجه با توجه به این که در مطالعه حاضر از موش‌های بالغ استفاده شده است نتایج با مطالعه حاضر جهت کاهش سطح هورمونی موش‌های بالغ در مواجهه

[3] Venugopal V, Krishnamoorthy M, Venkatesan V, Jaganathan V, Paul S. Occupational heat stress, DNA damage and heat shock protein-a review. *Med Res Arch* 2018; 6.

<https://doi.org/10.1080/23328940.2019.1632144>

[4] Khodaei-Motlagh M, Shahneh AZ, Masoumi R, Derensis F. Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *Afr J Biotechnol* 2011; 10: 5552-5558.

[5] Chan AP, Yi W. Heat stress and its impacts on occupational health and performance. SAGE Publications Sage UK: London, England; 2016.

<https://doi.org/10.1177/1420326X15622724>

[6] Tawatsupa B, Lim LY, Kjellstrom T, Seubsman SA, Sleigh A. The association between overall health, psychological distress, and occupational heat stress among a large national cohort of 40,913 Thai workers. *Glob Health Action* 2010; 3: 5034.

<https://doi.org/10.3402/gha.v3i0.5034>

[7] Tawatsupa B, Lim LL, Kjellstrom T, Seubsman S-a, Sleigh A. Association between occupational heat stress and kidney disease among 37 816 workers in the Thai Cohort Study (TCS). *J Epidemiol* 2012; 22: 251-260.

<https://doi.org/10.2188/jea.JE20110082>

[8] Luo H, Turner LR, Hurst C, Mai H, Zhang Y, Tong S. Exposure to ambient heat and urolithiasis among outdoor workers in Guangzhou, China. *Sci Total Environ* 2014; 472: 1130-1136.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.042>

[9] Gayton AJTU. Medical physiology (Translated by Farrukh Shadan). 2011; 2: 245.

[10] Rahimi MR, Khodamoradi M, Falah F. Effects of caffeine consumption before resistance exercise on blood levels of testosterone and growth hormones in male athletes. *Koomesh* 2019; 21: 679-685. (Persian).

[11] Deviche PJ, Hurley LL, Fokidis HB, Lerbour B, Silverin B, Silverin B, et al. Acute stress rapidly decreases plasma testosterone in a free-ranging male songbird: potential site of action and mechanism. *Gen Comp Endocrinol* 2010; 169: 82-90.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.009>

[12] Pressman A, Hernandez A, Sikka SC. Lifestyle stress and its impact on male reproductive health. *Bioenvironmental issues affecting men's reproductive and sexual health*: Elsevier 2018; p: 73-83.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801299-4.00005-0>

[13] Jóźków P, Mędraś M. Psychological stress and the function of male gonads. *Endokrynol Pol* 2012; 63: 44-49.

[14] Ribeiro CT, De Souza DB, Costa WS, Sampaio FJ, Pereira-Sampaio MA. Immediate and late effects of chronic stress in the testes of prepubertal and adult rats. *Asian J Androl* 2018; 20: 385.

https://doi.org/10.4103/aja.aja_68_17

[15] Deuter CE, Duesenberg M, Hellmann-Regen J, Metz S, Roepke S, Wolf OT, et al. Psychosocial stress increases testosterone in patients with borderline personality disorder, post-traumatic stress disorder and healthy participants. *Borderline Personal Disord Emot Dysregul* 2021; 8: 1-9.

<https://doi.org/10.1186/s40479-021-00145-x>

[16] Nirupama M, Yajurvedi HN. Durational effects of chronic stress on the testicular damage and its reversibility in albino rat. *Eur J Exp Biol* 2013; 3: 229-239.

[17] Guedri K, Frih H, Chettoum A, Rouabhi R. Chronic restraint stress induced neurobehavioral alterations and histological changes in rat. *Toxicol Environ Health Sci* 2017; 9: 123-129.

<https://doi.org/10.1007/s13530-017-0312-6>

[18] Yaeram J, Setchell B, Maddocks S. Effect of heat stress on the fertility of male mice in vivo and in vitro. *Reprod Fertil Dev* 2006; 18: 647-653.

<https://doi.org/10.1071/RD05022>

[19] Quinteiro-Filho WM, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro M, Sakai M, Sá LR, et al. Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. *Poult Sci* 2010; 89: 1905-1914.

<https://doi.org/10.3382/ps.2010-00812>

[20] Cavigelli SA, Bao AD, Bourne RA, Caruso MJ, Caulfield JI, Chen M, Smyth JM. Timing matters: the interval between acute stressors within chronic mild stress modifies

عوامل استرس‌زا بر ترشح GnRH یا هورمون لو‌تینه‌کننده (LH) یا با عمل مستقیم اجزای پاسخ استرس فیزیولوژیکی، مانند محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال بر روی غدد واسطه انجام شود [۳۲،۳۳]. از طرفی وجود عوامل استرس‌زای روانی در محیط کار و در زندگی شخصی و اجتماعی افراد مسئله قابل چشم‌پوشی نیست و به عنوان یک استرس‌زای زمینه‌عاملی برای هم‌افزایی اثرات سوء فیزیولوژیک ناشی از مواجهه با گرما محسوب می‌شود. هم‌چنین نتایج مطالعات پیشین به اهمیت دو عامل زبان‌آور محیطی صدا و روشنایی به عنوان عامل استرس و تاثیرگذار بر سطح هورمون تستوسترون اشاره نمودند [۳۴،۳۵]. در بدن فرد مواجهه یافته با استرس روانی، تکانه‌های ناشی از نواحی قشر بالاتر مغز از طریق سیستم لیمبی به هیپوتالاموس منتقل می‌شوند که نتیجه آن آزاد شدن انتقال‌دهنده‌های عصبی مانند سروتونین، نوراپی‌نفرین، کورتیزول و استیل‌کولین می‌باشد. در نتیجه زمانی گروه مواجهه با دو نوع استرس‌گرمایی و روانی قرار گرفتند سبب کاهش ۱/۲۰ واحد سطح هورمونی تستوسترون می‌شود.

بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه می‌توان بیان نمود وجود هم‌زمان استرس‌گرمایی و روانی ممکن است بر سطح هورمون جنسی تستوسترون تأثیرگذار باشد و در نتیجه به منظور پیشگیری از اثرات سوء این عوامل استرس‌زا بر شاخص‌های تولید مثلی پرسنل در معرض، لازم است اقدامات پیشگیرانه جدی‌تر برای کاهش سطح مواجهه با این عامل زبان‌آور فیزیکی و کنترل سطح استرس روانی در کارگران صنایع پرداخته شود. علاوه بر آن، پیشنهاد نویسندگان برای مطالعات آتی، استفاده از دماهای مختلف و بررسی شاخص‌های تولید مثلی دیگر جهت بهتر روشن شدن مطالب است و از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به محدودیت زمانی، حفظ شرایط محیطی محفظه اشاره نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی و پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بوده است (کد طرح: ۲۳۹۵۱).

منابع

[1] Morshed-Behbahani B, Lamyian M, Joulaei H, Montazeri A. Analysis and exploration of infertility policies in Iran: a study protocol. *Health Res Policy Syst* 2020; 18: 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12961-019-0505-3>

[2] Balochkhaneh FA, Dehghan SF, Haghparast A, Vaziri MH, Kohanehshari MH, Sabour S. Effects of Combined Exposure to Heat and Psychological Stress on Oxidative Stress Parameters of Adult Male Rats. *J Toxicol Environ Health Sci* 2021. <https://doi.org/10.1007/s13530-021-00107-4>

- [30] Sharaf AK, El-Darawany A, Nasr A, Habeeb A. Recent techniques for amelioration the effect of heat stress conditions on male rabbits. *Zagazig J Agricul Res* 2019; 46: 501-514.
<https://doi.org/10.21608/zjar.2019.33404>
- [31] Nogueiras R, Barreiro ML, Caminos JE, Gaytán F, Suominen JS, Navarro VM, et al. Novel expression of resistin in rat testis: functional role and regulation by nutritional status and hormonal factors. *J Cell Sci* 2004; 117: 3247-357.
<https://doi.org/10.1242/jcs.01196>
- [32] Deviche P, Desavire S, Giraudeau MJ, Zoology B. Experimental manipulation of corticosterone does not influence the clearance rate of plasma testosterone in birds. *Physiol Biochem Zool* 2017; 90: 575-582.
<https://doi.org/10.1086/693043>
- [33] Lynn SE, Perfito N, Guardado D, Bentley GE. Food, stress, and circulating testosterone: cue integration by the testes, not the brain, in male zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *Gen Comp Endocrinol* 2015; 215: 1-9.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.03.010>
- [34] Crino OL, Johnson EE, Blickley JL, Patricelli GL, Breuner CW. Effects of experimentally elevated traffic noise on nestling white-crowned sparrow stress physiology, immune function and life history. *J Exp Biol* 2013; 216: 2055-2062.
<https://doi.org/10.1242/jeb.081109>
- [35] Sayed M, Abdelfatah M. Effect of light-emitting diode (LED) light color on testicular growth, circulating testosterone concentration and sperm quality in dandarawi roosters. *Egy Poul Sci J* 2018; 38: 195-205.
- behavioral and physiologic stress responses in male rats. *Stress* 2018; 21: 453-463.
<https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1459557>
- [21] Wang J, Wan Y, Zheng N. Albiflorin ameliorates depressive-like behaviors in mice induced by chronic unpredictable mild stress. *Curr Topics Nutr Res* 2020; 18.
<https://doi.org/10.37290/ctnr2641-452X.18:102-107>
- [22] Yazdanshenas A, Peeri M, Azarbyjani MA. The effect of voluntary training on testosterone and corticosterone levels in male rats following maternal separation. *Horizon Med Sci* 2018; 24: 316-323. (Persian).
- [23] Tavalaee M, Sadeghi N, Nasr-Esfahani MH. Effect of heat stress on spermatogenesis. 2018; 20: 125-142. (Persian).
- [24] Takahashi M. Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reprod Med Biol* 2012; 11: 37-47.
<https://doi.org/10.1007/s12522-011-0105-6>
- [25] Aktas C, Kanter M. A morphological study on Leydig cells of scrotal hyperthermia applied rats in short-term. *J Mol Histol* 2009; 40: 31-39.
<https://doi.org/10.1007/s10735-009-9210-9>
- [26] Chen Y, Yu T. Testosterone mediates hyperthermic response of mice to heat exposure. *Life Sci* 2018; 214: 34-40.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.058>
- [27] Gao J, Zuo Y, So KH, Yeung WS, Ng EH, Lee KF. Electroacupuncture enhances spermatogenesis in rats after scrotal heat treatment. *Spermatogenesis* 2012; 2: 53-62.
<https://doi.org/10.4161/spmg.19282>
- [28] Amuoghlibrizi B, Khakpour M. Protective effects of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome extract on heat-induced testicular damage in the mouse. *Vet Clin Pathol Quart Sci J* 2013; 7: 183-192.
- [29] Kumar VS, Kumar RP, Harikrishna C, Rani MS. Effect of heat stress on production and reproduction performance of buffaloes-A review. *Pharma Innovat* 2018; 7: 629-633.

Effects of co- exposure to heat and psychological stresses on serum levels of testosterone in male rats

Faezeh Abbasi Balochkhaneh (M.Sc)¹, Somayeh Farhang Dehghan (Ph.D)^{*2}, Abbas Haghparast (Ph.D)³, Noradin Gharari (Ph.D)⁴, Soheila Khodakarim Ardakani (Ph.D)⁴

1 – Dept. of Occupational Health and Safety, School of Public Health and Safety, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Environmental and Occupational Hazards Control Research Center, School of Public Health and Safety, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Neuroscience Research Center, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Dept. of Biostatistics, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

* Corresponding author. +98 21 22432040

somayeh.farhang@gmail.com

Received: 18 Jan 2021; Accepted: 21 Apr 2021

Introduction: The present study aimed to investigate the effect of co-exposure to heat stress as an environmental stressor and psychological stress on serum levels of testosterone in male rats.

Materials and Methods: This study was performed on 40 healthy adult male Wistar rats during a period of 40 days. The rats were evenly and randomly divided into three exposure groups and one control group. The rats in the heat stress group were exposed to 36 ° C and 20% humidity. The rats in psychological stress group was daily exposed to three types of stress: strobe light, cage tilt, and noise. The rats in co-exposure group also experienced both types of heat and psychological stresses. Then, the level of testosterone was measured in all groups.

Results: The results showed that the co-exposure group (4.20 ng/ml \pm 1.15) had lower hormone levels than the two exposure groups that were separately exposed to heat stress (4.35 ng/ml \pm 1.15) and psychological stress (4.98 ng/ml \pm 1.51); while the level of hormone in the control group was 5.41 ng/ml \pm 1.69 ($P > 0.05$). The results of univariate analysis showed that the co-exposure group had the highest difference in hormone levels compared to the control group and the largest effect size.

Conclusion: In general, heat and psychological stress can each affect the level of testosterone as one of the components of reproduction system. However, co-exposure to these two types of stressors may lead to more severe effects on the testosterone level.

Keywords: Heat Stress Disorders, Physiological Stress, Testosterone, Rats