

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

IMPACT D'UN EFFLUENT D'EAUX USÉES SOUMIS À UN TRAITEMENT PRIMAIRE
SUR LE MÉTABOLISME DES LIPIDES ET LE STRESS OXYDATIF HÉPATIQUE DU
GRAND BROCHET

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ(E)

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR

MÉLANIE MEUNIER

JUIN 2024

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.12-2023). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma gratitude envers les personnes et institutions qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail de recherche, dont le soutien et engagement ont été inestimables tout au long de mon parcours académique. Je souhaite d'abord exprimer ma reconnaissance envers mes directeurs de recherche, Jonathan et Magali, pour le partage de leurs expertises, leurs conseils, leur temps et leurs encouragements tout au long de ce projet, sans parler des opportunités que vous m'avez fournies de communiquer mes recherches à plusieurs occasions et de me développer sur le plan académique et professionnel.

Mes remerciements s'étendent également aux organismes qui ont rendu ce projet possible financièrement, dont le CRSNG, Environnement et Changement climatique Canada ainsi que le Réseau de formation technologique avancée sur le risque et la remédiation de la pollution en zone urbaine pour l'octroi des fonds de recherche à Jonathan Verreault et Magali Houde qui m'ont permis de bénéficier d'une bourse d'étude tout au long de ma maîtrise.

Un immense merci à Ling Wang, notre technicienne de laboratoire, dont le travail précieux et essentiel a permis la réalisation d'une partie importante des analyses chimiques de mes échantillons.

Houda mérite une reconnaissance particulière pour son accompagnement et son soutien dans les analyses génomiques, dont l'implication, la rigueur, la patience et la disponibilité ont grandement contribué à la qualité des résultats obtenus. Merci également à Maikel Rosabal pour son accompagnement et sa disponibilité pour la réalisation des analyses TBARS à son laboratoire, ainsi qu'à Vincent pour son assistance lors des manipulations. Merci aussi à toute l'équipe de terrain, qui ont fait de la collecte d'échantillons une aventure agréable grâce à leur bonne humeur et motivation, et ce, malgré les journées de pêche sans prise : Laurie Mercier, Benoît Fortin, Michel Arseneau, Conrad Beauvais, Elisa Michon et Magali Houde.

Un grand merci à mes collègues Anaïs Kerric, Anna Lippold, Coralie Turquois, Laura Zeppetelli-Bédard, Sarah Vigeant, Madeleine Lépine, Meredith Sherrill et Valérie Jolicoeur dont le soutien, l'écoute et les conseils inestimables ont enrichi mon expérience et je suis reconnaissante pour la chaleureuse communauté de laboratoire qu'elles ont créée.

Ma gratitude va également à mes amis, spécialement Stéphane, Charlotte, Laurence, Thomas et Abigail pour leurs encouragements, leur écoute et leur précieux soutien dans les bons et les mauvais moments. Votre compagnie a définitivement rendu cette expérience plus agréable et aisée grâce à tous ces moments de rires, de discussions enrichissantes, d'écoute attentive et de compassion partagée. Un remerciement particulier à Stéphane pour son appui informatique qui a été d'une grande valeur.

Ma famille, et spécialement mes parents, mérite une gratitude spéciale qui va bien au-delà des mots. Ils ont toujours été mes plus fervents supporters : ils ont été présents de manière indéfectible, m'ont encouragée constamment et ont toujours eu foi en moi, même dans mes moments de doute. Leurs sacrifices et leur amour inconditionnel m'ont offert les piliers fondamentaux qui m'ont permis d'être où je suis aujourd'hui. Merci.

Enfin, un immense et chaleureux merci à Francis, dont le soutien exceptionnel, la bonne humeur, le réconfort et la compréhension à travers ces deux années ont su illuminer les journées les plus chargées. Ta présence inestimable a été une épaule solide sur laquelle m'appuyer dans les moments de doute et de fatigue. Merci infiniment pour tout.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	x
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS.....	xv
RÉSUMÉ.....	xvii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 ÉTATS DES CONNAISSANCES	4
1.1 Problématique des effluents urbains	4
1.1.1 Complexité des effluents urbains.....	4
1.1.2 Traitement des eaux usées à Montréal	6
1.2 Les contaminants environnementaux.....	6
1.2.1 Les retardateurs de flamme halogénés.....	6
1.2.1.1 Les RFH dans l'écosystème du Saint-Laurent.....	7
1.2.2 Les substances per- et polyfluoroalkylées	9
1.2.2.1 Les PFAS dans l'écosystème du Saint-Laurent.....	9
1.3 Métabolisme des lipides chez les poissons	10
1.3.1 Fonctions biologiques des lipides	11
1.3.2 Le métabolisme des lipides et l'expression des gènes	12
1.4 Le stress oxydatif.....	13
1.4.1 Les cytochromes P450, les peroxysomes et leur rôle dans le stress oxydatif.....	13
1.4.2 Le stress oxydatif et la prolifération peroxysomale	13
1.5 Effets des contaminants et des effluents urbains sur la santé des poissons.....	14
1.5.1 Expérimentations en laboratoire	14
1.5.2 Analyses sur des poissons prélevés en milieu naturel.....	16
1.5.2.1 Effets chez le grand brochet du Saint-Laurent.....	16
1.6 Objectifs et hypothèses	17
1.6.1 Objectif général.....	17
1.6.2 Objectifs spécifiques et hypothèses	18
CHAPITRE 2 IMPACT OF PRIMARY WASTEWATER EFFLUENT ON LIVER LIPID METABOLISM AND OXIDATIVE STRESS IN NORTHERN PIKE	20
2.1 Abstract.....	21
2.2 Introduction.....	22
2.3 Materials and Methods.....	24

2.3.1	Field sampling.....	24
2.3.2	Body condition.....	26
2.3.3	Chemical analyses.....	26
2.3.3.1	Halogenated flame retardants	26
2.3.3.2	Per- and polyfluoroalkyl substances	26
2.3.4	Lipidomics	27
2.3.5	Transcription analyses	28
2.3.5.1	RNA extraction and reverse transcription.....	28
2.3.5.2	Primer design	28
2.3.5.3	Real-time quantitative PCR analysis	29
2.3.5.4	Droplet Digital PCR analysis.....	29
2.3.6	Oxidative stress.....	30
2.3.7	Statistical analysis.....	30
2.4	Results.....	31
2.4.1	Body condition.....	31
2.4.2	HFR and PFAS concentrations	31
2.4.3	Lipidomics	33
2.4.4	Gene transcription.....	33
2.4.5	Oxidative stress.....	34
2.4.6	Relationships between variables	34
2.5	Discussion	34
2.5.1	Body condition.....	34
2.5.2	HFR and PFAS concentrations	35
2.5.3	Lipidomics	37
2.5.4	Gene transcription.....	38
2.5.5	Oxidative stress.....	40
2.6	Conclusion	41
2.7	Acknowledgments.....	42
2.8	Supporting information	43
2.9	References.....	65
	CONCLUSION	75
	BIBLIOGRAPHIE	77

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Sampling sites of Northern pike in the St. Lawrence River (QC, Canada).....	25
Figure 2.2 Liver mRNA levels (relative normalized expression fold (\pm SEM) of genes involved in lipid metabolism of male pike collected upstream ($n = 8$, except <i>ppara</i> with $n = 5$) and downstream ($n = 8$) of the Montreal's MWWWE (Mann-Whitney U Test and Student t-test, , $*p \leq 0.05$).	33
Figure 2.4 Correlations between A) the \sum_{34} PBDE concentrations (ng/g ww) and relative normalized expression of <i>ppara</i> (upstream, $n = 5$; downstream, $n = 7$) and B) relative abundance of \sum_2 steroid lipids and the relative normalized expression of <i>pla2g4ab</i> (upstream, $n=8$; downstream, $n = 8$) in male pike liver collected at the Montreal's MWWWE discharge point in the St. Lawrence River. Grey field represents the 95% confidence interval and sites are identified with symbols for upstream (\blacktriangle) and downstream (\circ).	34

LISTE DES TABLEAUX

Table 2.1 Mean (\pm SEM, range) of HFR and PFAS concentrations (ng/g ww) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's MWW in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the method limits of quantification (MLOQ). *Represents compounds that were statistically different between the two sites according to Student T-test ($p \leq 0.05$).....	32
Tableau 2.2 Sex, age and morphological information of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).	43
Table 2.3 List of flame retardants analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).	45
Table 2.4 List of per- and polyfluoroalkyl substances analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).	46
Table 2.5 Number of individual lipids by class, grouped by biological function, analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).....	49
Table 2.6 List of genes, acronyms, and primer information used for real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) analysis in Northern pike liver collected upstream and downstream.	50
Table 2.7 List of genes, acronyms and primer information used for digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR) analysis in Northern pike liver collected upstream and downstream.	51
Table 2.8 Final cDNA reaction concentration in reaction mix for each gene for real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR).....	52
Table 2.9 Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) steps for primers validation and sample analysis.	52
Table 2.10 Digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR) steps for sample analysis.....	53
Table 2.11 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the method limits of quantification (MLOQ). PBDEs not presented were below the MLOQ in all samples.....	54
Table 2.12 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of detected per- and polyfluoroalkyl substances (other than PFCA and PFSA classes) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the limit of detection (LOD).	55
Table 2.13 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of perfluorocarboxylates (PFCAs) and perfluoroalkane sulfonates (PFSA) classes in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the limit of detection (LOD).56	

Table 2.14 Statistical results of Student T-test or Mann-Whitney <i>U</i> test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in concentrations of perfluorocarboxylates (PFCAs) and perfluoroalkane sulfonates (PFASs) classes in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).	57
Table 2.15 Statistical results of Student T-test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in the relative contribution (%) for the sum of each lipid biological function (mean \pm SEM, range) in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).	58
Table 2.16 Statistical results of Student T-test or Mann-Whitney <i>U</i> test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in the relative contribution (%) for the sum of each lipid class in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). The biological functions are arranged in descending order of relative contribution (%) importance. Each lipid class is also ranked in descending order of relative contribution (%) importance within its biological function.	59
Table 2.17 Mean (\pm SEM, range) of malondialdehyde (MDA)/triacylglycerol (TAG) concentrations (mmol/mg) in Northern pike liver collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).	60
Table 2.18 Liver mRNA levels as relative normalized expression fold (mean \pm SEM, range) of selected genes in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP (QC, Canada).....	61
Table 2.19 List of contaminants under the method limit of quantification (MLOQ) and limit of detection (LOD) in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).	62
Table 2.20 List of correlations close and under alpha-cutoff value ($p < 0.05$) for Pearson correlations and Spearman's rank correlation coefficient in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).....	64

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

11-KT : 11 ketotestosterone

3,6-OPFHpA : Perfluoro-3,6-dioxaheptanoic acid

ABN : Acid-basic-neutral

ACADM : Acyl-CoA dehydrogenase

ACOX1 : Acyl-CoA Oxidase 1

Anti-DP : Anti-Dechlorane Plus

AR : Androgen receptor

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine triphosphate

BA : Bile acid

BTBPE : 1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy) éthane/1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy) ethane

CAT : Catalase

CCME : Conseil canadien des ministres de l'environnement

cDNA : Complementary DNA

CE : Cholesteryl esters

Cer : Céramide/Ceramide

CPlus : Chlordène Plus/Chlordene Plus

CPT1 : Carnitine palmitoyltransferase 1

CYP : Cytochrome P450

DAG : Diacylglycérol/Diacylglycerol

DBDPE : Décabromodiphényl éthane/Decabromodiphenyl ethane

ddPCR : Droplet digital polymerase chain reaction

DEHP : Di-(2-ethylhexyl) phthalate

DP : Déchlorane Plus/Dechlorane Plus

E2 : 17 β -estradiol

ECNI : Electron capture negative ionization

EE2 : Estrogen ethynylestradiol

ELOVL : Élongases des acides gras à très longue chaîne/Elongases of very long-chain fatty acids

ER α : Estrogen receptor alpha

FA : Fatty acid

FADS : Désaturase des acides gras/Fatty acid desaturase

FASN : Acide gras synthase/Fatty acid synthase

FTSA : Acide sulfonique de fluorotélomère/Fluorotelomer sulfonic acid

G : Ganglioside

GC : Gas chromatograph

GST : Glutathion S-Transférase

HBB : Hexabromobenzène/Hexabromobenzene

HFR : Halogenated flame retardant

HSI : Hepatosomatic index

HPA : Hypothalamo-hypophysaire-surrénalien/Hypothalamic-pituitary-adrenal

HPG : Hypothalamo-hypophysaire-gonadique/Hypothalamic-pituitary-gonadal

ILIS : Isotopically labeled internal standard

LPC : Lysophosphatidylcholine

mRNA : Messenger ribonucleic acid

MDA : Malondialdéhyde/Malondialdehyde

MLOD : Method limits of detection

MLOQ : Method limits of quantification

MRM : Multiple reaction monitoring

MS : Mass spectrometer

MWWE : Municipal wastewater effluent

NRT : No-reverse transcriptase control

NTC : No-template control

PBDE : Polybromodiphényléthers/Polybrominated diphenylethers

PBT : Polybutylene terephthalate

PC : Phosphatidylcholine

PCK1 : Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1

PFAS : Substances per- et polyfluoroalkylées/Per- and polyfluoroalkyl substances

PFBA : Acide perfluorobutanoïque/Perfluorobutanoic acid

PFCA : Acides carboxyliques perfluorés/Perfluorocarboxylates

PFDA : Acide perfluorodécanoïque/Perfluorodecanoic acid

PFDS : Sulfonate de perfluorodécane/Perfluorodecane sulfonate

PFECHS : Perfluoro-4-éthylcyclohexane/Perfluoro-4-ethylcyclohexane sulfonate

PFHpA : Perfluoroheptanoic acid

PFHpS : Perfluoroheptane sulfonate

PFHxA : Perfluorohexanoic acid

PFHxS : Sulfonate de perfluorohexane/ Perfluorohexane sulfonate

PFNA : Acide perfluorononanoïque/Perfluorononanoic acid

PFOA : Acide perfluorooctanoïque/Perfluorooctanoic acid

PFOcDA : Perfluorooctadecanoic acid

PFOS : Sulfonate de perfluorooctane/Perfluorooctane sulfonate

PFPeA : Perfluoropentanoic acid

PFPiA : Perfluoroalkylphosphinic acids

PFSA : Perfluorosulfonate

PFTeA : Acide perfluorotétradécanoïque/Perfluorotétradecanoic acid

PFTrA : Perfluorotridecanoic acid

PFTrDA : Acide perfluorotridécanoïque/Perfluorotridecanoic acid

PFUnA : Acide perfluoroundécanoïque/Perfluoroundecanoic acid

PG : Phosphatidylglycérol/Phosphatidylglycerol

PI : Phosphatidylinositol

PLA2 : Phospholipase A2

PLE : Pressurized liquid extraction system

PLIN2 : Perilipin 2

POP : Persistent Organic Pollutants

PPAR : Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes/Peroxisome proliferator-activated receptors

PS : Phosphatidylsérine/Phosphatidylserine

PUFA : Acide gras polyinsaturé/Polyunsaturated fatty acid

RFH : Retardateurs de flamme halogénés

RNA : Ribonucleic acid

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

RT-qPCR : Real-time quantitative polymerase chain reaction

SEM : Standard error of mean

SLC : Solute carrier

SM : Sphingomyéline/Sphingomyelin

SOD : Superoxyde dismutase/Superoxide dismutase

SREBF : Facteur de liaison aux éléments régulateurs du cholestérol/Sterol regulatory element-binding factors

T : Testosterone

TAG : Triacylglycérols/Triacylglycerols

TBA : Thiobarbituric acid

TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique/Thiobarbituric acid reactive substances

TCA : Trichloroacetic acid

TTMP : Tetramethoxypropane

Vtg : Vitellogenin

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

% Pourcentage

* Asterisk

~ Approximately

< Lesser than

> Greater than

± Plus or minus

Σ Somme/Sum

\geq Greater or equal

°C Celsius degree

μ M Micromolaire

df Degrees of freedom

dL Deciliter

g Gramme/Gram

h Heure

kJ Kilojoule

k_u Uptake rate constants

L Litre/Liter

lw Poids lipidique/Lipid weight

m^3/j Mètres cubes par jour

mg Milligramme/Milligram

min Minute

mm Millimètre/Millimeter

n Fréquence

ng Nanogramme

nmol Nanomol

p p-value

pg Picogramme

rpm Revolution per minute

t t-value

v Volume

W W-value

ww Poids humide/Wet weight

α Alpha

β Bêta

RÉSUMÉ

Les effluents d'eaux usées municipales représentent d'importantes sources de contamination chimique pouvant affecter la santé des organismes aquatiques. L'effluent primaire de Montréal (QC, Canada) est l'un des plus importants en Amérique du Nord et constitue une source locale connue de retardateurs de flamme halogénés (RFH) dans le fleuve Saint-Laurent. Une régulation à la baisse de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme des lipides a été signalée chez le grand brochet (*Esox lucius*) collecté en aval de l'effluent de Montréal, ainsi que des changements dans le profil lipidique hépatique et des corrélations entre des marqueurs d'inflammation et les concentrations de RFH. L'objectif de cette étude était d'explorer les effets sur le métabolisme hépatique des lipides (via des analyses lipidomiques et de la transcription génique) et le stress oxydatif (peroxydation lipidique) chez le grand brochet du fleuve Saint-Laurent exposé dans son habitat à l'effluent de Montréal. Une série de RFH et de substances per- et polyfluoroalkylées (PFAS) ont été quantifiées dans le foie du brochet. Parmi les 18 PFAS quantifiés pour la première fois chez un poisson du Saint-Laurent, trois ont été détectés. Les concentrations de \sum_{76} PFAS dans le foie des grands brochets femelles collectées en aval de l'effluent étaient plus faibles que celles collectées en amont. Dans le foie des grands brochets mâles, des niveaux plus bas d'ARNm des gènes du récepteur alpha activé par les proliférateurs de peroxyosomes (*ppara*), un régulateur important du métabolisme des lipides, et de la phospholipase A2, groupe IVA (*pla2g4ab*), impliqué dans le métabolisme de la lysophosphatidylcholine et de l'acide arachidonique, ainsi qu'une plus faible abondance relative des \sum_{1528} lipides ont été observés en aval. Une plus grande contribution au \sum_{1528} lipide a été observée pour les \sum_{1103} lipides membranaires et les \sum_2 lipides stéroïdes dans le foie des grands brochets mâles collectés en aval. De plus, des corrélations négatives entre les concentrations de \sum_{34} PBDE et les niveaux d'ARNm de *ppara*, ainsi qu'entre les \sum_2 lipides stéroïdes et les niveaux d'ARNm de *pla2g4ab*, ont été observées dans le foie des grands brochets mâles. Ces résultats suggèrent qu'une exposition environnementale chronique d'un poisson prédateur supérieur à un effluent primaire peut avoir des effets spécifiques au sexe sur la composition lipidique du foie et sur la modulation de la transcription génique impliquée dans le métabolisme des lipides.

Mots clés : Contaminants aquatiques; Exposition environnementale; Réponses spécifiques au sexe; Métabolisme des acides gras; Poisson téléostéen.

INTRODUCTION

Les effluents d'eaux usées urbains représentent une source anthropique de contamination environnementale importante, de par leur composition complexe en matières organiques et en contaminants chimiques (Marcogliese *et al.*, 2015a). Ces contaminants peuvent être, par exemple, des produits d'hygiène personnels, des composés pharmaceutiques (p. ex. anti-inflammatoires, hormones synthétiques), des composés industriels (p. ex. retardateurs de flamme halogénés [RFH]), des substances per- et polyfluoroalkylées (PFAS) ou encore des métaux (Lai *et al.*, 2016 ; Montagner *et al.*, 2019 ; Xu *et al.*, 2021). Les concentrations de ces contaminants dans un effluent peuvent varier en fonction de la saison, du débit ou encore du type de traitement réalisé sur ces eaux (Coutu *et al.*, 2013 ; Rocha-Gutierrez et Lee, 2012). La station d'épuration des eaux usées de Montréal (QC, Canada), qui est la plus grande en Amérique du Nord et la 3^e plus grande au monde, traite en moyenne près de 2,3 millions de mètres cubes d'eaux usées par jour (m³/j) par temps sec et 7,6 millions m³/j par temps pluvieux (Ville de Montréal, 2023). Son effluent primaire est déversé dans le fleuve Saint-Laurent et est reconnu comme étant une source locale de contaminants, incluant les RFH (Houde *et al.*, 2014b ; Lafrance et Robert, 2021 ; Pelletier et Rondeau, 2013).

Les RFH sont utilisés depuis les années 1960 pour réduire l'inflammabilité des matériaux auxquels ils sont ajoutés (p. ex. plastiques, textiles, produits électroniques, mousses de rembourrage) (Covaci *et al.*, 2011). Les RFH comprennent les polybromodiphényléthers (PBDE), largement utilisés pendant des décennies et inscrits en 2009 sous la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (pentaBDE et l'octaBDE; décaBDE fût ajouté en 2017) (Stockholm Convention, 2019). Cependant, bien que les concentrations de 24 PBDE dans les particules en suspension du fleuve Saint-Laurent aient diminué depuis 2010 à deux sites importants, soit la station de Lavaltrie (en aval de la station d'épuration de Montréal) et à la station de Québec (Lafrance et Robert, 2021), plusieurs RFH alternatifs continuent d'être produits pour remplacer les mélanges de PBDE interdits et sont retrouvés notamment dans les boues et les eaux des stations d'épuration des eaux usées (Hou *et al.*, 2021). De plus, malgré ces réglementations, aucune tendance significative n'a été observée dans les concentrations de PBDE dans la graisse de bélugas (*Delphinapterus leucas*) de l'estuaire du Saint-Laurent pendant une période de 17 ans (1997 à 2013) (Simond *et al.*, 2017). Les PBDE sont résistants à la dégradation et leur faible solubilité dans l'eau et forte affinité pour les gras les rendent sujets à la bioaccumulation dans les organismes aquatiques. Des concentrations plus élevées de PBDE ont d'ailleurs été retrouvées dans le secteur de Montréal chez des perchaudes (*Perca flavescens*) entières (963 ng/g poids lipidique [lw]) et dans le foie de grands brochets (*Esox lucius*)(2876 ng/g lw) et de maskinongés (*Esox muskellunge*)(3873 ng/g lw)(Houde *et al.*, 2014a), qu'à d'autres endroits dans le Saint-Laurent chez l'anguille d'Amérique (*Anguilla rostrata*)(101 ng/g poids humide [ww]), l'éperlan arc-en-ciel

(*Osmerus mordax*)(34 ng/g ww) et le poulamon atlantique (*Microgadus tomcod*)(274 ng/g ww) (Law *et al.*, 2003).

Un autre groupe de contaminants préoccupants est celui des PFAS, qui sont utilisés depuis les années 1950, notamment pour leurs propriétés hydrofuges et oléofuge, dans une large gamme de produits (p. ex. textiles, poêles antiadhésives, mousses de lutte incendiaire, pesticides). Certains PFAS ont été inscrits sous la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants, dont le sulfonate de perfluorooctane (PFOS) (2009), l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) (2019), ainsi que le sulfonate de perfluorohexane (PFHxS) (2022) et leurs composés homologues (Stockholm Convention, 2019, 2023). Ils sont persistants dans l'environnement et peuvent se lier aux protéines du sang et s'accumuler dans les tissus hautement perfusés, tels que le foie et les reins (Kudo, 2015). Plusieurs PFAS ont été rapportés dans la chaîne alimentaire du grand brochet, dont l'acide perfluorobutanoïque (PFBA) qui était dominant chez les insectes, le PFOA et ses précurseurs anioniques (p. ex. l'acide sulfonique de fluorotélomère 8:2 [8:2 FTSA]) chez les gammaridés, insectes et mollusques, tandis que les PFOS étaient dominants dans les 12 espèces de poissons capturés et dépassaient fréquemment les recommandations fédérales canadiennes sur le régime alimentaire de la faune (Munoz *et al.*, 2022).

L'exposition chronique aux effluents urbains entraîne des répercussions sur le métabolisme des organismes aquatiques résidant dans les cours d'eau où ils sont déversés. Houde *et al.* (2014b) ont rapporté des associations entre les PFAS, PBDE et des éléments traces métalliques en aval du site de rejet des eaux usées de Montréal et des marqueurs de stress oxydatif chez les perchaudes du Saint-Laurent, se traduisant entre autres par une augmentation de la catalase (CAT) dans le foie. De plus, la transcription de 177 gènes s'est révélée significativement différente entre les perchaudes exposées et non exposées à l'effluent, résultant en une régulation à la baisse de la majorité des voies métaboliques pour les poissons exposés (Houde *et al.*, 2014b). Chez les brochets du Saint-Laurent prélevés en aval du point de rejet de l'effluent de Montréal, une augmentation de la transcription de certains gènes liés au stress oxydatif (glutathion S-Transférase (GST), superoxyde dismutase (SOD), cytochrome P450 1A1 [CYP1A1]) quantifiés dans le plasma a aussi été observée, suggérant un stress environnemental plus grand à cet endroit (Houde *et al.*, 2013a). Reinling *et al.* (2017) ont également rapporté une sous-expression des gènes de l'acide gras synthase (*fasn*), qui catalyse la lipogenèse, et de l'acyl-CoA oxydase 1 (*acox1*), la première enzyme de la β -oxydation, chez les brochets mâles capturés en aval du site de rejet. Les niveaux de transcription de ces deux gènes étaient en corrélation inverse avec les concentrations de 34 PBDE quantifiés dans le foie, suggérant un impact de ces contaminants sur les réserves énergétiques (Reinling *et al.*, 2017). Une autre étude a rapporté une diminution de la transcription d'un gène ayant un rôle majeur pour la régulation du métabolisme des lipides, le récepteur

activé par les proliférateurs de peroxyosomes alpha (*ppara*), dont la transcription était quatre fois plus faible dans le foie de grands brochets prélevés en aval de l'effluent des eaux usées de Montréal, comparativement à ceux capturés en amont (Dépatie *et al.*, 2020).

Pour de nombreuses espèces de poissons, l'utilisation des lipides représente la principale source d'énergie et est indispensable à de nombreux processus physiologiques, tels que la croissance, la reproduction, ou encore la locomotion (Tocher, 2003). Des réserves énergétiques, principalement composées de triacylglycérols (TAGs) dans le foie, les muscles et les tissus adipeux mésentériques, sont naturellement accumulées afin d'être utilisées pour remplir les fonctions essentielles à certaines périodes requérant une demande énergétique plus grande qu'à l'habitude, comme la reproduction, la migration ou encore en cas d'indisponibilité alimentaire (Smolders *et al.*, 2003 ; Tocher *et al.*, 2008). Dans certaines conditions défavorables, les ressources énergétiques peuvent être utilisées (p. ex. soigner un tissu blessé, combattre un pathogène, réactions biologiques suite à l'exposition à un agent toxique), changeant alors l'équilibre du bilan énergétique et la disponibilité des réserves pour les fonctions essentielles (Rajotte et Couture, 2002). Ces changements, si trop intenses ou persistants sur une période prolongée, génèrent un stress sur l'organisme pouvant entraîner des altérations irréversibles, des effets pathologiques, un bilan énergétique défavorable, ou même éventuellement, le décès (Smolders *et al.*, 2003).

L'objectif de ce projet est d'évaluer l'impact de l'exposition environnementale à un effluent d'eaux usées primaire sur le métabolisme des lipides et le stress oxydatif dans le foie de grands brochets du fleuve Saint-Laurent. Plus spécifiquement, en plus d'évaluer la condition générale des individus, des concentrations tissulaires hépatiques de différentes variables biologiques ont été quantifiées, comprenant un large éventail de lipides, la transcription de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme des lipides ainsi qu'un biomarqueur de stress oxydatif. À ces analyses s'ajoute la quantification de RFH et PFAS, fournissant simultanément des données sur les RFH établis ainsi que sur les PFAS établis et émergents chez un prédateur au sommet de la chaîne trophique, le grand brochet.

Ce document adopte la forme d'un mémoire par article, divisé en deux chapitres distincts. Le premier présente l'état actuel des connaissances sur les effluents municipaux, mettant en avant l'impact sur le métabolisme des lipides et le stress oxydatif des poissons qui y sont exposés, avec un accent particulier sur l'effluent primaire de la Ville de Montréal. Le second, rédigé en anglais sous forme d'article scientifique, se concentre sur les effets de l'effluent montréalais sur le métabolisme lipidique et le stress oxydatif hépatique chez le grand brochet.

CHAPITRE 1

ÉTATS DES CONNAISSANCES

1.1 Problématique des effluents urbains

1.1.1 Complexité des effluents urbains

Les effluents d'eaux usées urbaines représentent une problématique environnementale considérable puisqu'ils sont une source importante de rejet de contaminant dans l'environnement. Ils sont composés d'un mélange diversifié de matière organique, de substances biologiques et de contaminants chimiques, tels que des produits d'hygiène personnels, des composés pharmaceutiques, des composés industriels, et bien d'autres (Lai *et al.*, 2016 ; Montagner *et al.*, 2019 ; Stroski *et al.*, 2020 ; Xu *et al.*, 2021). Par exemple, parmi les produits pharmaceutiques, il est possible de retrouver des hormones synthétiques, utilisées principalement pour la contraception, qui sont des perturbateurs endocriniens capables d'induire la féminisation chez les espèces aquatiques et d'exercer des effets reprotoxiques sur la faune à différent niveau trophique exposée à des concentrations aussi faibles que des parts par billion (ng/L) (Jobling *et al.*, 2002 ; Kidd *et al.*, 2014). Également, les antidépresseurs, même à des concentrations environnementales faibles, peuvent affecter la reproduction et le développement chez des larves et poissons adultes (Lopes *et al.*, 2020 ; Sehonova *et al.*, 2017). Parmi les composés industriels, il est possible de retrouver une grande variété de métaux (p. ex. zinc, cuivre, arsenic, cadmium, chrome, argent) à des concentrations supérieures au bruit de fond naturel (Ganzoury *et al.*, 2022 ; Gobeil *et al.*, 2004), de RFH (Xu *et al.*, 2021) ou encore de PFAS (Lai *et al.*, 2016 ; Stroski *et al.*, 2020), qui peuvent, eux aussi, avoir un impact sur la santé des organismes exposés à un effluent qui en contiendrait.

Il est difficile de comprendre les interactions synergiques, additives ou encore antagonistes possibles entre tous les composés chimiques ou métaux contenus dans un effluent d'eaux usées, d'autant plus que ces effluents sont sujets à une très grande variabilité dans leur composition, induite par plusieurs facteurs, tels que la temporalité (p. ex. l'influence des saisons ou du temps de la journée), le contexte socio-économique de son emplacement, le débit de la station d'épuration, ou encore le type de traitement appliqué avant leur rejet dans l'environnement (Bélanger, 2010 ; Coutu *et al.*, 2013 ; Rocha-Gutierrez et Lee, 2012 ; Tran *et al.*, 2018). Par exemple, un traitement primaire, tel qu'utilisé à la station de la Ville de Montréal, consiste en plusieurs étapes physiques : le dégrillage, qui se résume au passage des eaux usées à travers une grille pour retirer les plus gros débris, le dessablage, qui permet de retirer les particules solides, la décantation permettant aux particules plus fines de se déposer au fond du bassin, et finalement l'élimination des matières flottantes du bassin de décantation, comme les huiles et les graisses (Gandhi et Shah, 2021). Après les

procédés de sédimentations physiques, une sédimentation chimique peut être utilisée à l'aide d'un coagulant (p. ex. alun, chlorure ferrique, sulfate ferrique) et, bien dosé, permet de retirer 45-65% de la demande biologique en oxygène, 60-80% des particules en suspension et une certaine quantité de phosphore, mais laisse passer contaminants organiques, produits pharmaceutiques et métaux lourds contenus dans les eaux usées (Dulude, 2016 ; Gandhi et Shah, 2021). Le traitement secondaire est un traitement biologique qui permet de dégrader les matières organiques et qui retirent entre 30-70% de contaminants groupés ensemble (produits d'hygiène personnels, produits pharmaceutiques, surfactants, plastifiants, pesticides, retardateurs de flamme et nanomatériaux), comparativement à 20-50% pour les traitements primaires (Rout *et al.*, 2021). Les traitements tertiaires, pour leur part, permettent de retirer plus de 90% de ces contaminants groupés ensemble (Rout *et al.*, 2021), et peuvent consister en l'ozonation, l'application d'ultraviolets, le lagunage et divers systèmes de filtration (Dulude, 2016). Ce niveau de traitement permet de retirer notamment virus, bactéries, phosphore et azote, mais aussi composés pharmaceutiques et métaux lourds (Dulude, 2016 ; Gandhi et Shah, 2021).

En raison de leurs compositions complexes et variables, il est difficile de prévoir les répercussions possibles du relâchement des eaux usées dans l'environnement. Il est plus convenant d'évaluer les effets d'un composé individuel ou l'interaction de quelques composés à différentes concentrations sur un organisme en laboratoire (dosage), mais ce n'est pas représentatif du cocktail de contaminants retrouvés dans les eaux usées. Par exemple, l'exposition d'échantillons de foie de morue de l'Atlantique pendant 48h à des PFAS (PFOS, PFOA, acide perfluoronanoïque [PFNA]), tant individuellement que sous forme d'un mélange, a entraîné une variabilité au niveau du nombre de gènes ayant un niveau d'expression différent du contrôle (respectivement 86, 25 et 31 gènes pour les PFAS individuels et 841 pour le mélange) (Dale *et al.*, 2022). Il est également possible d'évaluer l'impact des eaux usées en exposant des organismes à des eaux usées collectées d'une station d'épuration, mais étant donné la variabilité de leur composition, les résultats peuvent également être variables. Par exemple, des variations dans les réponses de féminisation chez des gardons (*Rutilus rutilus*) exposés pendant six mois à un effluent traité soit par procédé à boues activées (secondaire), filtrées par du sable (tertiaire), au dioxyde de chlore (avancé) et au charbon actif granulaire (avancé), ont été observés en fonction du type de traitement employé (Baynes *et al.*, 2012). Aucun effet de féminisation chez ces poissons n'a été rapporté pour le traitement tertiaire et le traitement avancé au charbon, contrairement au traitement secondaire et au traitement avancé au dioxyde de chlore (Baynes *et al.*, 2012), démontrant l'importance du type de traitement sur l'effluent et ses répercussions possibles sur les organismes exposés.

1.1.2 Traitement des eaux usées à Montréal

La station d'épuration des eaux usées Jean-R.-Marcotte, qui dessert l'ensemble de l'île de Montréal et l'île Bizard, a été achevée en 1995 (Bishop, 2019). Il s'agit de la plus grande station d'épuration en Amérique du Nord et la 3^e plus grande au monde et traite près de 2,3 millions m³/j d'eaux usées par temps sec et jusqu'à 7,6 millions de m³ par temps pluvieux, ce qui représente le plus grand volume d'eaux usées relâché dans tout le fleuve Saint-Laurent (Dulude, 2016 ; Ville de Montréal, 2023). La station est située à la pointe est de l'île de Montréal et déverse les eaux usées dans le fleuve Saint-Laurent au niveau de l'île aux Vaches.

Actuellement, 63 % du territoire de la Ville de Montréal est constitué d'un réseau unitaire qui combine à la fois la collecte des eaux usées et celle des eaux pluviales (Bélanger, 2010). Ces eaux usées sont collectées par trois conduites principales du réseau secondaire, desservant principalement des milieux résidentiels et industriels (industries aérospatiales, pharmaceutiques, pétrochimiques, textiles et production manufacturière), selon leur localisation (Bishop, 2019 ; Dulude, 2016). Une fois à la station, les solides de plus de 25 mm sont retirés par dégrillage, puis les particules plus grosses qu'un grain de sable sont retirées par dessablage (Dulude, 2016). Les eaux usées sont ensuite traitées à l'aide d'un traitement primaire physico-chimique, soit une coagulation-floculation qui permet de retirer plus de 60-80% des particules en suspension et une certaine quantité de phosphore par décantation dans les 21 décanteurs de la station (Bélanger, 2010).

Lors de la conception de la station d'épuration, l'intégration éventuelle d'un système de désinfection tertiaire a été prévue (Bishop, 2019). Entre 2005 et 2007, des projets pilotes ont été réalisés et au printemps 2008, la Ville de Montréal annonçait la construction d'une usine de production d'ozone (Bishop, 2019 ; Dulude, 2016). Le but est d'utiliser l'ozonation durant la période estivale, pour analyser ensuite la possibilité de l'utiliser à longueur d'année (Dulude, 2016). Cependant, suite à un conflit d'intérêts, la construction est mise à l'arrêt en 2019, malgré les travaux non complétés (Bishop, 2019). Actuellement, le système de désinfection à l'ozone est prévu pour 2025 (Ville de Montréal, 2022) et il n'y a toujours pas de traitement secondaire ni tertiaire, rejetant donc encore dans le fleuve Saint-Laurent, bactéries, virus, produits pharmaceutiques, métaux lourds et autres contaminants retrouvés dans les eaux usées (Dulude, 2016).

1.2 Les contaminants environnementaux

1.2.1 Les retardateurs de flamme halogénés

Les RFH ont été largement utilisés depuis les années 1960 pour atténuer le risque d'inflammabilité dans divers matériaux, tels que les plastiques, textiles, produits électroniques, scellant, matériaux de construction

et mousses de rembourrage (Covaci *et al.*, 2011). Une famille très utilisée de RFH comprend les polybromodiphényléthers (PBDE), totalisant plus de 209 congénères possibles. Ceux-ci partagent tous la même structure de base composée de deux cycles aromatiques, mais avec des variations possibles au niveau de la position et du nombre d'atomes de brome qui le compose. Les PBDE les plus retrouvés dans l'environnement sont ceux composés en majorité les trois mélanges commerciaux, soit les pentaBDE, octaBDE et décaBDE. Les RFH ont tendance à se libérer dans l'environnement tout au long de leur cycle de vie, que ce soit lors de leur fabrication, de leur utilisation ou de leur élimination dans des sites d'enfouissement, en raison de l'absence de liaison covalente avec les matériaux auxquels ils sont ajoutés. Ces molécules suscitaient des inquiétudes sur le plan environnemental, car elles s'échappent par voie atmosphérique et aquatique, tout en étant résistantes à la dégradation, ce qui conduit à leur accumulation dans l'environnement. Les PBDE, reconnus également pour leur faible solubilité dans l'eau combinée à leur forte affinité pour les lipides, présentent également un risque de bioaccumulation dans les organismes aquatiques. Ainsi, pour leur persistance, bioaccumulation et toxicité, le pentaBDE et l'octaBDE ont été inscrits en 2009 sous la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants, suivis du décaBDE en 2017 (Stockholm Convention, 2019). D'autres composées de remplacements, tels que d'autres ignifugeants bromés ou sans halogènes, sont cependant utilisées comme substituts. Notamment, le décabromodiphényl éthane (DBDPE) et 1,2-bis (2,4,6-tribromophenoxy) éthane (BTBPE) sont parmi les nouveaux retardateurs de flamme bromés les plus fréquemment retrouvés dans l'environnement (Hou *et al.*, 2021 ; Zuiderveen *et al.*, 2020).

1.2.1.1 Les RFH dans l'écosystème du Saint-Laurent

Les PBDE ont été quantifiés dans les sédiments et les eaux de surface du fleuve Saint-Laurent. Les concentrations du congénère BDE-209 se sont avérées supérieures à la somme des concentrations des huit autres familles de congénères ou congénères détectés (triBDE, tetraBDE, BDE-100, pentaBDE, hexaBDE, heptaBDE et octaBDE)(Lafrance et Robert, 2021). Ce constat valait pour chacune des quatre stations d'échantillonnage du fleuve (Carillon, Lavaltrie, Bécancour et Québec) (Lafrance et Robert, 2021). Cependant, les BDE-99 et BDE-100 étaient également détectés dans les eaux de surface du Saint-Laurent, et sont reconnus pour leur toxicité accrue par rapport au BDE-209. Notamment, le BDE-99 affichait une fréquence de dépassement du seuil de protection de la vie aquatique, établi à 4000 pg/L par le Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME), de 2,1% à la station Lavaltrie, où les concentrations de PBDE les plus importantes ont été retrouvées (Lafrance et Robert, 2021). Ce résultat confirme l'ampleur de la contribution de la région urbaine de Montréal à l'apport de ces contaminants dans le fleuve Saint-Laurent (Lafrance et Robert, 2021). Dans les sédiments du fleuve, les concentrations médianes du BDE-209 étaient plus faibles à l'embouchure de la rivière des Outaouais (en amont du fleuve Saint-Laurent) qu'à

l'embouchure du fleuve à Québec (en aval), passant respectivement de 14 ng/g à 50 ng/g (Pelletier et Rondeau, 2013).

Des concentrations significativement plus élevées de 10 PBDE ont été quantifiées dans les perchaudes en aval de l'usine de traitement des eaux usées, comparativement à celles pêchées en amont (Houde *et al.*, 2014b). Les mêmes tendances ont été observées dans une autre étude chez la perchaude, le grand brochet et le maskinongé récoltés en amont et en aval de l'effluent, suggérant la présence d'une source d'émission importante dans la région de Montréal (Houde *et al.*, 2014a). De plus, les concentrations de PBDE, parmi les 32 congénères retrouvés, dans les foies de perchaudes (entre 94 - 2480 ng/g de lipide), brochets (1068 - 5971 ng/g de lipide) et maskinongés (696 - 24 031 ng/g de lipide), font partie des niveaux les plus élevés répertoriés chez des poissons prédateurs, non seulement des autres régions du Saint-Laurent, mais aussi de toute l'Amérique du Nord (Houde *et al.*, 2014a). Une étude temporelle sur les concentrations de RFH dans le gras d'un mammifère marin, le béluga du Saint-Laurent, a rapporté des baisses dans les concentrations d'hexabromobenzène (HBB), chlordène Plus (CPlus) et déchlorane plus (DP), mais aucun changement dans les concentrations de \sum_{35} PBDE de 1997 (1260 ng/g de lipides [lw]) à 2013 (1068 ng/g lw) (Simond *et al.*, 2017). Cette même étude a également comparé les concentrations de \sum_{35} PBDE retrouvées dans le gras des bélugas du Saint-Laurent en 2011 (918 ng/g lw) et 2013 (1068 ng/g lw), qui se sont avérées plus élevées que celles de bélugas de l'Arctique canadien en 2011 (918 ng/g lw) et 2013 (279 ng/g lw) (Simond *et al.*, 2017). Cette observation suggère une exposition plus marquée aux PBDE chez les organismes du Saint-Laurent en raison de leur proximité avec des sources anthropiques en amont de l'estuaire (Simond *et al.*, 2017). Dans une étude plus récente de Defo *et al.* (2021), au cours de laquelle des perchaudes juvéniles ont été exposées à l'effluent de Montréal à l'aide de cages dans le Saint-Laurent pendant six semaines, les concentrations mesurées dans le corps entier (homogénat) de Σ_{34} PBDE étaient 2 fois plus grandes chez les perchaudes exposées (6,2 ng/g ww) que celles gardées dans une cage en amont du point de rejet de l'effluent (2,8 ng/g ww). Après six semaines, comparativement au groupe de perchaudes conservées en laboratoire, les concentrations de Σ_{34} PBDE étaient 2,5 fois plus grandes au site de référence et 5 fois plus grandes au site exposé (Defo *et al.*, 2021), confirmant l'apport important de PBDE par l'effluent primaire de Montréal.

Chez le grand brochet, selon Reinling *et al.* (2017), les congénères de PBDE les plus abondants dans les foies étaient les BDE-47, -99, -100, constituant respectivement chacun 42,6%, 23,4% et 16,3% de la somme des concentrations des 34 PBDE. La même équipe a également trouvé des concentrations moyennes environ 4 fois (5.4 fois pour les femelles, 3.7 fois pour les mâles) plus élevées de la somme de 34 PBDE dans les foies des brochets en aval du site de rejet de la station d'épuration que dans ceux récoltés en amont. Les concentrations des 34 PBDE chez ces mêmes brochets, sans distinction des sexes, ont également été

rapportées dans une étude de Dépatie et al. (2020), avec une concentration de PBDE de 55 ng/g (ww) en amont et 218 ng/g (ww) en aval dans les foies de brochets.

1.2.2 Les substances per- et polyfluoroalkylées

Les PFAS, pour leur part, sont des substances synthétiques aliphatiques fluorées utilisées depuis les années 1950 pour leur action antiadhésive, hydrofuge et oléofuge, sur une grande diversité de matériaux, tels que les tapis, textiles, poêles antiadhésives, contenants d'aliments, mousse pour extincteurs de feu, lubrifiants, insecticides, produits pharmaceutiques, fluides hydrauliques ou encore produits mécaniques. Les PFAS, qu'elles soient perfluoroalkylées avec le remplacement total des atomes d'hydrogène par des atomes de fluor, ou polyfluoroalkylées avec une substitution partielle, tirent leur grande stabilité thermique et chimique de leurs liaisons carbone-fluor. Elles sont donc persistantes dans l'environnement et peuvent se lier aux protéines du sang et s'accumuler dans les tissus hautement perfusés, tels que le foie et les reins (Kudo, 2015). Les PFAS les plus étudiées sont les PFOS, PFOA et PFHxS, principalement en raison de leur utilisation répandue avant l'inclusion dans la Convention de Stockholm de PFOS (2009), PFOA (2019) et PFHxS (2022) et leurs sels et substances apparentées (Stockholm Convention, 2019, 2023). Cependant, d'autres PFAS non réglementées sont aussi produits et utilisés. Malgré l'identification de niveaux plus élevés de PFAS chez les organismes à proximité de points de rejet identifiés, leur présence généralisée a été constatée dans des échantillons de tissus prélevés sur des organismes à l'échelle mondiale, et bien que le nombre de PFAS étudiées soit actuellement restreint, une détection croissante de concentrations de PFAS est rapportée.

1.2.2.1 Les PFAS dans l'écosystème du Saint-Laurent

D'après une étude de Munoz et al. (2015), des concentrations de PFAS ont été déterminées dans les eaux de surfaces du fleuve Saint-Laurent autour de l'île de Montréal, à des concentrations variant de 0,19 à 0,72 ng/L pour le PFOA, de 0,07 à 0,21 ng/L pour PFNA et de 0,02 à 0,25 ng/L pour l'acide perfluorodécanoïque (PFDA). Dans les échantillons de la station d'épuration des eaux usées de Montréal, le principal composé de PFAS trouvé était le PFOA, avec une concentration de 7,3 ng/L (Munoz *et al.*, 2015). Une étude de Scott et al. (2009) indique également une concentration plus élevée de PFOA en aval de l'île de Montréal qu'en amont, avec une concentration de 0,786 ng/L en amont dans la rivière des Outaouais et une de 1,61 ng/L en aval (Ville de Lavaltrie), suggérant un apport de PFAS dans le Saint-Laurent par la Ville de Montréal.

Munoz et al. (2022) ont aussi rapporté la présence de PFAS dans la chaîne alimentaire du grand brochet, un prédateur au sommet de la chaîne trophique du Saint-Laurent, chez des spécimens récoltés près de l'archipel de Montréal dans le fleuve Saint-Laurent. Les résultats ont révélé la fréquence élevée des précurseurs anioniques de PFBA et PFOA (p. ex. 8:2 FTSA) dans les niveaux trophiques inférieurs, comprenant

gammaridés, insectes et mollusques (valeurs moyennes de \sum_{60} PFAS allant de 0,52 à 2,3 ng/g ww), tandis que les concentrations de PFOS étaient dominantes chez les 12 espèces de poissons capturées (valeurs moyennes de \sum_{60} PFAS allant de 21 à 92 ng/g ww) (Munoz *et al.*, 2022). Les concentrations de PFOS dépassaient fréquemment les recommandations fédérales canadiennes sur le régime alimentaire de la faune (4,6 ng/g ww pour les mammifères et 8,2 ng/g ww pour les oiseaux se nourrissant de poissons), ce qui représentait une augmentation de 2,6 à 30 fois par rapport aux niveaux recommandés pour les mammifères et une augmentation de 1,5 à 17 fois plus élevée pour les oiseaux (Gouvernement du Canada, 2016 ; Munoz *et al.*, 2022). Les concentrations les plus élevées ont été observées chez l'achigan à petite bouche (*Micropterus dolomieu*), un prédateur benthopélagique du Saint-Laurent, atteignant en moyenne 92 ng/g ww pour la \sum_{60} PFAS dans l'ensemble du corps sous forme d'homogénat (Munoz *et al.*, 2022).

Une étude de Houde *et al.* (2013a) a quantifié 12 composés fluorés dans le plasma, le foie et le muscle de grands brochets prélevés en amont (lac des Deux-Montagnes) et en aval (Ilet Vert) de l'île de Montréal. Les concentrations de PFAS étaient plus élevées dans le plasma que les deux autres organes. L'étude a rapporté un patron de contamination similaire pour les acides carboxyliques perfluorés (PFCA) entre les deux sites, mais avec des concentrations plasmatiques plus élevées de PFOS en aval, à 410 ng/g ww, comparativement à 96,9 ng/g ww en amont, et aussi de sulfonate de perfluoro-4-éthylcyclohexane (PFECHS), à 5,07 ng/g ww en aval tandis qu'il n'a pas été détecté en amont (Houde *et al.*, 2013a), suggérant un apport de ces deux PFAS dans le fleuve Saint-Laurent par l'environnement urbain de Montréal. Une étude sur des perchaudes prélevées en amont (île Beauregard) et à 4 et 10 km en aval du point de rejet des eaux usées de Montréal a également rapporté que les concentrations de certains PFAS, notamment PFNA, PFDA, l'acide perfluoroundécanoïque (PFUnA) et l'acide perfluorotridécanoïque (PFTriA), étaient plus élevées en amont du point de rejet, confirmant que l'effluent des eaux usées de Montréal ne serait pas la seule source de rejet de ces contaminants dans le fleuve Saint-Laurent (Houde *et al.*, 2014b). Cette même étude a également rapporté des concentrations plus élevées de PFOS et de sulfonate de perfluorodécane (PFDS) au site plus éloigné du site déversement de l'effluent (10 km), indiquant que les concentrations de PFAS présent dans les homogénats de corps entier diminuent près du point de rejet, avant de remonter plus loin en aval (Houde *et al.*, 2014b).

1.3 Métabolisme des lipides chez les poissons

Comparativement à d'autres métabolites, les lipides occupent une part importante du bilan énergétique chez les poissons, avec une valeur d'environ 39,5 kJ/g, comparativement à 17 kJ/g pour le glycogène et 24 kJ/g pour les protéines (Smolders *et al.*, 2003). Les lipides jouent un rôle significatif dans le métabolisme énergétique chez les poissons, par l'utilisation de leurs réserves comme ressource pour soutenir le

métabolisme, la croissance, la reproduction, la locomotion et la migration (Smolders *et al.*, 2003 ; Tocher *et al.*, 2008). Les réserves énergétiques sont naturellement accumulées dans le foie, les muscles et les tissus adipeux mésentériques afin de répondre à certaines périodes requérant une demande énergétique plus grande qu'à l'habitude, comme durant la période de reproduction, où les lipides seront stockés dans les gonades, ou en cas d'indisponibilité alimentaire temporaire, où ils seront utilisés pour remplir les fonctions essentielles (Borcier, 2019 ; Sprague *et al.*, 2012 ; Tocher, 2003a). Dans certaines conditions défavorables, les ressources énergétiques peuvent être utilisées (p. ex. réparer un tissu blessé, combattre un pathogène ou les impacts biologiques d'agents toxiques), changeant alors l'équilibre du bilan énergétique et la disponibilité des réserves pour les fonctions essentielles (Rajotte et Couture, 2002). L'analyse de la composition lipidique dans les tissus des poissons peut ainsi fournir des informations précieuses sur leur état de santé global.

1.3.1 Fonctions biologiques des lipides

Les principaux lipides de réserve énergétique sont les lipides neutres, tels que les triacylglycérols (TAGs) (anciennement appelés triglycérides), utilisés afin de répondre à la demande énergétique accrue lors de certaines périodes spécifiques (p. ex. reproduction, migration, pénurie alimentaire) (Borcier, 2019 ; Sprague *et al.*, 2012 ; Tocher *et al.*, 2008). D'autres lipides remplissent d'autres fonctions biologiques; par exemple, les lipides membranaires contribuent à la dynamique structurale des membranes cellulaires par la transmission de signaux et régulent la fonction cellulaire (p. ex. rigidité membranaire, assemblage de molécules de signalisation, trafic des protéines membranaires, croissance cellulaire, apoptose), dont la dérégulation peut entraîner des problèmes de santé (Borcier, 2019 ; Teixeira et Costa, 2016). Les lipides membranaires comprennent des phospholipides (p. ex. lysophosphatidylcholine [LPC], phosphatidylcholine [PC], phosphatidylsérine [PS], phosphatidylinositol [PI], phosphatidylglycérol [PG]), ainsi que des sphingolipides (p. ex. sphingomyéline [SM], céramide [Cer], ganglioside [G]). Les lipides membranaires présentent généralement une tête polaire (groupe phosphate), un squelette de glycérol et une queue non polaire composée de deux acides gras. Les diacylglycérols (DAGs), composés d'un squelette de glycérol et de deux acides gras, sont des lipides intermédiaires qui sont des précurseurs des TAG, par l'ajout d'un acide gras, ou un précurseur de phospholipides, par l'ajout d'un groupe phosphate. Les acides gras libres ont également des fonctions importantes dans le métabolisme des lipides. Outre leur implication dans les réserves énergétiques et les lipides membranaires, ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques, notamment les réponses inflammatoires et la reproduction, en fonction de leur longueur de chaîne, de leur degré d'insaturation et de la position de leurs liaisons éthyléniques (Gao *et al.*, 2023 ; Tocher, 2003b). Un autre groupe de lipides, structurellement différents des précédents par leurs quatre anneaux de carbones liés, est celui des stéroïdes. Ces derniers jouent des rôles cruciaux dans divers processus

physiologiques, tels que les réponses immunitaires, la reproduction et le comportement. De nombreux lipides stéroïdiens sont impliqués dans la régulation de leur propre axe endocrinien, l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA), mais peuvent également interagir avec d'autres axes endocriniens, tels que l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (HPG) (Cowan *et al.*, 2017 ; Tokarz *et al.*, 2015).

1.3.2 Le métabolisme des lipides et l'expression des gènes

L'homéostasie entre les différents groupes de lipides est maintenue par de nombreuses voies de signalisation, conduisant à l'expression de gènes spécifiques, finement régulée par les changements au niveau cellulaire, de l'organe ou même de l'organisme affectés par des facteurs environnementaux, physiques et/ou chimiques (Dreier *et al.*, 2020). Par exemple, le gène du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes alpha (*ppara*), induit par des acides gras, produit le facteur de transcription PPAR α qui permet la transcription de plusieurs gènes régulant la β -oxydation des acides gras (Varga *et al.*, 2011 ; Xu *et al.*, 1999). Plus précisément, PPAR α contrôle la quantité d'enzymes clés participant à l'oxydation des acides gras, influençant ainsi non seulement le métabolisme énergétique, mais aussi la modulation de la réponse inflammatoire (Li *et al.*, 2015). L'Acyl-CoA oxydase 1 (ACOX1), principalement régulée par PPAR α , par exemple, catalyse la dégradation des acides gras dans les peroxyosomes (Madureira *et al.*, 2019 ; Tocher, 2003b). Cependant, la β -oxydation peroxyosomale a plutôt une contribution substantielle au métabolisme des lipides chez les poissons, contrairement à la β -oxydation mitochondriale (Henderson, 1996). En effet, la β -oxydation mitochondriale génère de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) à partir d'acides gras à chaîne courte et moyenne (< C20), tandis que celle dans les peroxyosomes va plutôt être impliqué dans la dégradation des acides gras à très longue chaîne (C20 et plus) et des acides gras ramifiés (Mannaerts et van Veldhoven, 1993 ; Singh, 1996). Un autre facteur de transcription est le facteur de liaison aux éléments régulateurs du cholestérol (SREBF), qui active les gènes cibles impliqués dans la synthèse des TAG, du cholestérol et des acides gras, y compris le gène des élongases des acides gras à très longue chaîne (*elovl*) (Goh *et al.*, 2020). Les chaînes d'acides gras peuvent être allongées par l'ajout de deux carbones à la fois par ELOVL. Il existe sept ELOVL, se différenciant chacun par leur spécificité de substrat. Par exemple, chez le grand brochet, ELOVL5 allonge les acides gras polyinsaturés (PUFA) en position C18 ou C20 (Carmona-Antoñanzas *et al.*, 2013 ; Sun *et al.*, 2020). Cette action peut conduire à la production d'eicosanoïdes (PUFA en C20), qui peuvent à leur tour moduler certains aspects de la réponse immunitaire chez les poissons (Geay *et al.*, 2015 ; Rowley *et al.*, 1995). Un autre gène impliqué dans la biosynthèse des PUFA à longue chaîne est l'acide gras désaturase (*fads*). L'enzyme FADS catalyse la désaturation, une étape clé dans la conversion des acides gras essentiels obtenus dans l'alimentation en formes importantes pour diverses fonctions physiologiques, y compris la structure membranaire, la transduction des signaux et l'inflammation (Garrido *et al.*, 2019 ; Xie *et al.*, 2021). Les acides gras peuvent également être obtenus par

l'action d'autres enzymes, telles que la phospholipase A 2 (PLA2), qui peut hydrolyser les liaisons ester d'un glycérophospholipide pour libérer des acides gras, tels que l'acide arachidonique, contribuant à l'inflammation et à la signalisation cellulaire (Bao *et al.*, 2023 ; Okamura *et al.*, 2021). La régulation de ces processus est donc essentielle pour maintenir une composition lipidique cohérente au sein des tissus.

1.4 Le stress oxydatif

1.4.1 Les cytochromes P450, les peroxysomes et leur rôle dans le stress oxydatif

Les organismes aquatiques métabolisent les xénobiotiques par des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse du métabolisme de phase I, réalisées par les cytochromes P450, produisant comme sous-produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Livingstone, 1998; Hinton, 1989). Le but premier est de convertir les composés liposolubles en métabolites hydrosolubles pour faciliter leur excrétion (Livingstone, 1998). Les enzymes du métabolisme de phase I permettent l'oxydation, la réduction, l'hydratation et l'hydrolyse du xénobiotique en introduisant ou en modifiant un des groupes fonctionnels du xénobiotique (p. ex. -OH, -COOH, -NO₂) afin que les conjugués du métabolisme de phase II y attache une partie polaire, comme le glutathion, le sulfate ou encore un acide aminé, les rendant hydrosolubles (Livingstone, 1998). Le foie est un site majeur chez les poissons pour les activités de biotransformation des cytochromes P450 et de ses isoenzymes (Hinton, 1989).

Les peroxysomes, organites intracellulaires présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des globules rouges, sont essentiels au métabolisme des lipides et au métabolisme des ROS (Cajaraville *et al.*, 2003 ; Orbea *et al.*, 2002 ; Singh, 1996). En effet, les peroxysomes participent à la β -oxydation des acides gras, particulièrement ceux à longue chaîne (> 22 carbones) (Cajaraville *et al.*, 2003 ; Nicolas *et al.*, 2007). Cependant, la β -oxydation dans le peroxysome est légèrement différente de celle se produisant dans les mitochondries, puisqu'elle va majoritairement traiter des longues chaînes d'acides gras : ainsi, les acyl-CoA subissent plusieurs cycles de β -oxydation peroxysomale, jusqu'à l'obtention d'un acyl-CoA à huit carbones (octanoyl-CoA), qui se liera à une navette de carnitine pour sortir du peroxysome et terminer son oxydation dans une mitochondrie (Henderson, 1996 ; Nicolas *et al.*, 2007). De plus, les peroxysomes participent aussi à la β -oxydation de la chaîne latérale du cholestérol, entraînant, entre autres, la formation d'acides biliaires (Mannaerts et van Veldhoven, 1993).

1.4.2 Le stress oxydatif et la prolifération peroxysomale

Une partie de la toxicité de certains xénobiotiques provient de la production de ROS (Orbea *et al.*, 2002). Étant donné que les ROS sont des sous-produits normaux de plusieurs réactions métaboliques, un équilibre

est maintenu entre les enzymes produisant des ROS (métabolisme de phase I des cytochromes P450) et celles les dégradants (les peroxysomes), le moindre déséquilibre entre celles-ci résultant en un stress oxydatif (Singh, 1996). En effet, les ROS, comme l'anion superoxyde (O_2^-), l'oxygène singulet (O_2^*) ou encore le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), sont des molécules hautement réactives pouvant endommager les composants cellulaires, incluant les acides nucléiques, l'ADN, les protéines, les lipides ou encore les membranes, pouvant causer par le fait même une prolifération peroxysomale (Davies, 1995 ; Singh, 1996).

La prolifération peroxysomale, qui consiste en l'augmentation du volume et de la quantité des peroxysomes présents dans une cellule, est généralement générée par un stress. Ce phénomène s'accompagne généralement d'une augmentation de la quantité d'enzymes peroxysomales, particulièrement celles de la β -oxydation des acides gras, augmentant la production de H_2O_2 au sein des peroxysomes (Cajaraville *et al.*, 2003 ; Orbea *et al.*, 2002). Cela peut entraîner une insuffisance des enzymes antioxydantes (p. ex. CAT, SOD), ou stress oxydatif, pour neutraliser la hausse de la production de H_2O_2 , induisant alors des modifications oxydatives de protéines, de lipides ou encore d'acides nucléiques (Singh, 1996).

1.5 Effets des contaminants et des effluents urbains sur la santé des poissons

1.5.1 Expérimentations en laboratoire

En laboratoire, une étude de Salo *et al.* (2007) a rapporté une baisse significative des fonctions immunitaires chez des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), femelles et juvéniles, exposées à différentes concentrations de l'effluent des eaux usées de Montréal, pouvant potentiellement affecter leur santé en diminuant leur capacité à résister à certains pathogènes. Une exposition de quatre semaines à 1 et 3% d'effluent dilué avait augmenté la proportion de granulocytes (respectivement 7 et 6,5%, comparativement au contrôle 4,1%) dans le plasma, suggérant une réponse immunitaire ou une inflammation (Salo *et al.*, 2007). Une étude de Hébert *et al.* (2008), aussi sur des truites arc-en-ciel juvéniles exposées à différentes concentrations (0,01%, 0,1%, 1%, 10%, 25% ou 50%) d'effluent primaire, a rapporté une augmentation 1,7 fois plus grande de phagocytose à la concentration 25% après 28 jours d'exposition, mais qui n'était plus significatif après 90 jours. Après 28 jours, une prolifération des lymphocytes a aussi été observée, soit une augmentation de 1,5 fois pour les lymphocytes T et de 1,7 pour les lymphocytes B (Hébert *et al.*, 2008). Cependant, la prolifération des lymphocytes a été significativement réduite après 90 jours d'exposition à l'effluent, avec une diminution respective de 2,7 fois et 1,2 fois pour les lymphocytes T et B, suggérant que la durée de l'exposition peut aussi affecter les réponses observées (Hébert *et al.*, 2008).

Des effets au niveau de la transcription de certains gènes impliqués au niveau du métabolisme des lipides et du stress oxydatif ont été rapportés chez des saumons de l'Atlantique (*Salmo salar*) exposés par la diète à

des PFOS ou PFOA en laboratoire (Arukwe et Mortensen, 2011). En effet, les niveaux dans les reins d'ARN messager (ARNm) de PPAR α et γ ont augmenté de 2,5 fois par rapport au contrôle après huit jours d'exposition au PFOA, tandis que pour ACOX1, encore dans les reins, c'était plutôt une augmentation de 2 fois au 5^e jour et de 1,9 fois au 8^e jour d'une exposition à PFOA, comparativement au contrôle (Arukwe et Mortensen, 2011). Dans le foie, PFOA et PFOS ont respectivement produit au deuxième jour de l'exposition une augmentation de 1,4 et 1,8 fois dans les niveaux d'ARNm de CAT, un gène associé au stress oxydatif (Arukwe et Mortensen, 2011). Les niveaux de malondialdéhydes (MDA) ont aussi été mesurés à l'aide de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), un biomarqueur de stress oxydatif, et les niveaux mesurés dans le foie chez les poissons traités avec PFOA et PFOS ont significativement augmenté au jour 2, comparativement au contrôle, et le niveau a été maintenu jusqu'au cinquième jour de l'exposition, pour finalement diminuer au huitième jour (Arukwe et Mortensen, 2011). L'équipe a aussi rapporté une augmentation de 2 et 3 fois dans les niveaux de MDA mesurés dans les reins après une période de récupération suite à une exposition de 15 jours au PFOA et PFOS. Cependant, l'étude d'Arukwe et Mortensen (2011) a aussi déterminé que les effets étaient variables selon différents facteurs abiotiques et biotiques, tels que l'espèce, les conditions de l'exposition, le tissu étudié et les interactions chimiques.

Une étude *in situ* a été réalisée par Defo et al. (2021) avec des perchaudes juvéniles gardées en cage à un site de référence dans le fleuve Saint-Laurent, un site exposé à l'effluent et finalement un groupe de poissons-contrôles gardés en laboratoire, le tout pendant six semaines. Sept métabolites (glucose, malate, fumarate, glutamate, créatinine, histamine et oxypurinol) quantifiés dans le foie étaient en moyenne 2,7 fois plus élevés chez les perchaudes exposées et du site de référence comparativement à celles en laboratoire, à l'exception du glucose qui était 3,5 fois plus abondant (Defo *et al.*, 2021). Cependant, le glycogène hépatique était 2,7 fois moins abondant chez les poissons en cage comparativement à ceux du laboratoire (Defo *et al.*, 2021). Seul le malate avait une abondance normalisée moyenne plus élevée au site exposé (0,77), comparativement au site de référence (0,02) et aux poissons en laboratoire (-1,02) (Defo *et al.*, 2021). Comme les poissons en cage présentaient également des pourcentages de lipides corporels plus bas après six semaines, avec 2,64% au site de référence et 2,83% au site exposé à l'effluent, comparativement aux poissons en laboratoire (5%) (Defo *et al.*, 2021), ces résultats suggèrent une dépendance accrue vis-à-vis des réserves internes d'énergie provenant du glycogène hépatique, et, éventuellement des lipides corporels. Cette dépendance pourrait cependant résulter d'une acclimatation spécifique au Saint-Laurent ou à la cage, sauf dans le cas de la plus grande abondance du malate chez les poissons exposés, qui pourrait être liée à la nécessité pour les poissons de produire plus d'énergie en réponse au stress oxydatif induit par l'exposition à l'effluent (Defo *et al.*, 2021).

1.5.2 Analyses sur des poissons prélevés en milieu naturel

Chez des perchaudes prélevées en amont et en aval du site de rejet des eaux usées de Montréal, Houde et al. (2014b) ont rapporté que la transcription de plus de 177 gènes était altérée chez les poissons prélevés en aval, dont 38 communs aux deux sites en aval (4 et 10 km de distance du point de rejet), comparativement à ceux en amont. Parmi les 38 gènes, 11 étaient impliqués dans le système immunitaire, 4 dans le métabolisme des lipides, 3 dans le métabolisme du rétinol, 2 dans les procédés de détoxification et 2 autres dans le transport cellulaire/membranaire (Houde *et al.*, 2014b).

Plus précisément, cette étude a rapporté une augmentation de la transcription d'*acox1* et une baisse de l'activité enzymatique de l'ACOX dans le foie des poissons exposés comparativement à ceux non exposés, suggérant que d'autres éléments pourraient affecter les étapes intermédiaires entre la transcription du gène et l'activité de la protéine finale chez les poissons exposés à l'effluent (Houde *et al.*, 2014b). Ces résultats, ajoutés à la baisse de transcription observée en aval pour le gène *ppary*, un régulateur important du métabolisme des lipides, suggèrent que l'effluent primaire aurait un impact sur le métabolisme énergétique et des lipides des perchaudes (Houde *et al.*, 2014b).

De plus, Houde et al. (2014b) ont aussi rapporté des niveaux d'activité enzymatique plus élevés de biomarqueurs de stress oxydatif et de prolifération peroxysomale, notamment l'activité de la CAT dans le foie et de SOD dans les muscles des perchaudes capturés à 4 km en aval du point de déversement de l'effluent comparativement au site en amont. De plus, une corrélation positive entre l'activité de la CAT dans le foie et celle de SOD dans le foie et les muscles rapportée par cette même étude indique aussi que l'exposition à l'effluent de Montréal causerait un stress oxydatif chez les perchaudes.

1.5.2.1 Effets chez le grand brochet du Saint-Laurent

Chez le brochet du Saint-Laurent, une corrélation a été constatée entre des concentrations plasmatiques élevées de certains PFAS, soit PFTrDA, l'acide perfluorotétradécanoïque (PFTeA) et PFDS, et l'augmentation de l'expression du gène de la vitellogénine (Vtg) (Houde *et al.*, 2013a). La Vtg est une protéine hépatique précurseur des lipoprotéines et phosphoprotéines retrouvées dans le sac vitellin des œufs. Ces résultats suggèrent donc que l'effluent de la station d'épuration de Montréal peut avoir un effet de modulateur endocrinien chez le brochet (Houde *et al.*, 2013a). De plus, une augmentation de la transcription de certains gènes liés au stress oxydatif (GST, SOD, CYP1A1) quantifiés dans le plasma a aussi été observée dans cette même étude, suggérant une exposition à un environnement propice à l'induction du stress oxydatif en aval du point de décharge des eaux usées.

Pour leur part, Reinling et al. (2017) ont rapporté des changements au niveau de la transcription d'*acox1*, *fasn* et *ppary*, impliqués dans la régulation de la lipolyse et de la lipogenèse via la β -oxydation mitochondriale et peroxysomale, chez des grands brochets mâles exposés à l'effluent des eaux usées de Montréal. Les niveaux de transcriptions d'*acox1* et *fasn* se sont révélés plus faibles chez ces derniers, et correspondent à une baisse de l'activité enzymatique de l'ACOX également mesurée dans le foie des brochets (Reinling et al., 2017). La diminution de la transcription de *fasn* observée pourrait cependant également être associée à une alimentation basée sur des proies plus riches en matières grasses, ce qui réduirait le besoin de synthétiser des acides gras *de novo* (Reinling et al., 2017). Dans la même étude, les niveaux de transcription de *fasn* et *acox1* présentaient également une corrélation inverse avec les concentrations de 34 PBDE quantifiés dans le foie des brochets, suggérant ainsi que les PBDE présents dans l'effluent pourraient influencer les réserves énergétiques.

Une étude menée par Dépatie et al. (2020) a rapporté des différences dans les niveaux d'ARNm de *ppara* entre des grands brochets prélevés en amont et en aval du lieu de déversement de l'effluent de Montréal. Dans le site en aval de l'effluent des eaux usées, ces niveaux étaient quatre fois inférieurs, renforçant la suggestion que l'exposition à l'effluent des eaux usées pourrait affecter le métabolisme des lipides, étant donné le rôle en tant que régulateur majeur de PPAR α dans le métabolisme lipidique et inflammatoire (Dépatie et al., 2020).

1.6 Objectifs et hypothèses

1.6.1 Objectif général

Le présent projet avait pour objectif principal d'évaluer les effets de l'exposition aux eaux usées de la Ville de Montréal sur le métabolisme des lipides et le stress oxydatif du grand brochet, un poisson prédateur au sommet de la chaîne trophique du fleuve Saint-Laurent. Divers contaminants, dont des RFH et des PFAS, ont été identifiés et quantifiés dans les tissus de plusieurs espèces de poissons du Saint-Laurent, dans des concentrations plus élevées en aval du site de rejet de la station d'épuration des eaux usées de Montréal. Il a été reconnu que cet effluent est une des sources locales principales d'émission de RFH dans l'environnement. Ces derniers avaient d'ailleurs été utilisés auparavant comme marqueurs d'exposition à l'effluent de Montréal. Une comparaison entre les échantillons de foie de brochets prélevés sur les sites en amont et en aval du point de rejet de l'effluent a été effectuée afin d'évaluer les effets de ce dernier au niveau de l'abondance de certains groupes de lipides, du stress oxydatif et de la transcription de gènes associés au métabolisme des lipides.

1.6.2 Objectifs spécifiques et hypothèses

Premier objectif : Quantifier les concentrations hépatiques de certains RFH et PFAS chez les brochets prélevés en amont et en aval du site de déversement des eaux usées de Montréal.

Hypothèse : Suite aux observations rapportées par Houde et al. (2013a, 2014b) et Dépatie et al. (2020), des concentrations hépatiques plus élevées avaient été anticipées en aval de l'effluent de Montréal par rapport à l'amont.

Deuxième objectif : Comparer, entre l'amont et l'aval du point de décharge de l'effluent de Montréal dans le Saint-Laurent, l'abondance de différents lipides groupés selon leur fonction biologique, dont les lipides de réserve énergétique (TAG). Ces résultats permettent de compléter certains éléments de recherche apportés par Dépatie et al. (2020), qui se concentraient surtout sur les lipides membranaires hépatiques des grands brochets collectés dans le même effluent.

Hypothèse : Des concentrations plus élevées de TAG étaient attendues dans le foie des brochets récoltés au site en aval. Cette hypothèse se basait sur l'observation de la faible transcription hépatique en aval du gène *ppara* chez les brochets prélevés en aval dans l'étude de Dépatie et al. (2020), qui aurait pu conduire à une diminution de l'expression des gènes associés à la β -oxydation des acides gras, réduisant ainsi la capacité du foie à dégrader les acides gras pour produire de l'énergie. Ces changements auraient pu entraîner une accumulation accrue de graisses dans le foie et, par conséquent, influencer les concentrations de TAG dans cette même direction.

Troisième objectif : Quantifier les concentrations de malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de peroxydation lipidique, afin d'évaluer la présence potentielle d'un stress oxydatif dans le foie des brochets. Les concentrations de MDA ont été comparées entre les brochets récoltés en aval du site de rejet des eaux usées de la station d'épuration de Montréal et ceux en amont. Cette hypothèse se basait sur certaines mesures enzymatiques qui semblaient suggérer une augmentation du stress oxydatif chez les brochets récoltés en aval de l'effluent (Houde *et al.*, 2013a). De plus, des changements communs dans la transcription de différents régulateurs du métabolisme des lipides et des peroxysomes, comme PPAR, avaient été observés par Reinling et al. (2017) et Dépatie et al. (2020).

Hypothèse : Une plus grande concentration hépatique de MDA était attendue chez les brochets échantillonnés en aval de l'effluent. Cette hypothèse était basée sur l'augmentation du stress oxydatif observée chez les grands brochets récoltés en aval de l'effluent des eaux usées de Montréal (Houde *et al.*, 2013a).

Quatrième objectif : Évaluer les effets de l'exposition à l'effluent de Montréal sur la transcription des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides dans le foie des brochets. Pour ce faire, la transcription de huit gènes a été quantifiée, notamment trois gènes de la famille des PLA2, suite à l'hypothèse de Dépatie *et al.* (2020) qu'un groupe de cette famille de gène serait affecté par l'exposition à l'effluent de Montréal chez les brochets.

Hypothèse : Un niveau de transcription plus faible était attendu pour *acox1* et *ppara*, tel que rapporté précédemment par les études respectives de Reinling *et al.* (2017) et Dépatie *et al.* (2020). Comme ces gènes régulent la transcription de plusieurs autres gènes en aval impliqués dans le métabolisme des lipides, un changement de la transcription des gènes *srebfl*, *fads2*, *elovl5*, *pla2g4ab*, *pla2g12a* et *pla2g12b* chez les brochets récoltés en aval de l'effluent de Montréal comparé à ceux récoltés en amont était attendu.

Cinquième objectif : Évaluer les corrélations entre les variables biologiques mesurées aux objectifs deux, trois et quatre, mais aussi avec les concentrations hépatiques en RFH et PFAS chez les brochets récoltés en amont et en aval de l'effluent de Montréal.

Hypothèse : Des corrélations étaient anticipées entre les concentrations hépatiques de lipides et les gènes impliqués dans leur fonction biologique, par exemple entre les concentrations d'acides gras et les niveaux de transcription de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras, tels que les gènes de la famille des PLA2. Des corrélations étaient aussi attendues entre certains groupes de lipides, comme les lipides de réserve énergétique, et les concentrations de certains PFAS, telles que les PFOS, étant donné leurs effets stéatosiques sur le foie rapporté par une étude sur le poisson-zèbre (Cheng *et al.*, 2016) et leur grande prépondérance chez plus de douze espèces de poissons capturés près de Montréal, comprenant des grands brochets et ses proies (Munoz *et al.*, 2022).

CHAPITRE 2
IMPACT OF PRIMARY WASTEWATER EFFLUENT ON LIVER LIPID
METABOLISM AND OXIDATIVE STRESS IN NORTHERN PIKE

Mélanie Meunier^a, Houda Hanana^b, Magali Houde^b, Maikel Rosabal^a, Sébastien Sauvé^c, Jonathan Verreault^a

a Centre de recherche en toxicologie de l'environnement (TOXEN), Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-ville, Montreal, QC, H3C 3P8, Canada

b Environment and Climate Change Canada, 105 McGill Street, Montreal, QC, H2Y 2E7, Canada

c Département de chimie, Université de Montréal, C. P. 6128, Succursale Centre-ville, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

2.1 Abstract

Municipal wastewater effluents (MWWEs) are important sources of chemical contamination that can affect the health of aquatic organism. Montreal's primary MWW (QC, Canada) is one of the largest in North America and is a known local source of halogenated flame retardants (HFRs) into the St. Lawrence River. Downregulation of several genes involved in lipid metabolism were reported in Northern pike (*Esox lucius*) collected downstream of Montreal's MWW, as well as changes in hepatic lipid profile and correlations between markers of inflammation with HFRs concentrations. The objective of this study was to investigate the effects on hepatic lipid metabolism (via lipidomic and gene transcription analyses) and oxidative stress (lipid peroxidation) in St. Lawrence River Northern pike exposed in its habitat to Montreal's MWW. A suite of HFRs and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) were quantified in pike liver. Among 18 PFAS quantified for the first time in a fish from St. Lawrence, three were detected. Concentrations of \sum_{76} PFAS in liver of female pike collected downstream of the effluent outfall were lower than those collected upstream. In male pike liver, lower mRNA levels of peroxisome proliferator-activated receptor alpha (*ppara*), an important regulator of lipid metabolism, and phospholipase A2, group IVA (*pla2g4ab*), involved in lysophosphatidylcholine and arachidonic acid metabolism, as well as lower relative abundance of the \sum_{1528} lipid were observed at the downstream site. Higher percentage of contribution to the \sum_{1528} lipid were observed for \sum_{1103} membrane lipids and \sum_{2} steroid lipids in male pike liver collected downstream were also observed. Additionally, negative correlation between \sum_{34} PBDE concentrations and *ppara* mRNA levels as well as between \sum_{2} steroid lipids and *pla2g4ab* mRNA levels were observed in male pike liver. These findings suggest that chronic environmental exposure of a top predator fish to a primary MWW may have gender-specific effects on liver lipid composition and on the modulation of gene transcription involved in lipid metabolism.

Keywords: Aquatic contaminants; Environmental exposure; Sex-specific responses; Fatty acid metabolism; Teleost.

2.2 Introduction

Municipal wastewater effluents (MWWEs) consist of a wide array of biological and chemical compounds, including pharmaceuticals, personal care products and industrial waste (Kahatagahawatte et Hara-Yamamura, 2020 ; Lai *et al.*, 2016 ; Marcogliese *et al.*, 2015b ; Montagner *et al.*, 2019). The Montreal's primary MWE (QC, Canada) is one of the largest in North America and is recognized as a local source of halogenated flame retardants (HFRs) into the St. Lawrence River (Houde *et al.*, 2014b ; Lafrance et Robert, 2021 ; Pelletier et Rondeau, 2013). HFRs have been added to numerous commercial products since the 1960s to prevent the spread of fires and include the massively used polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) mixtures that are now listed under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) (Stockholm Convention, 2019).

It has been reported that the concentrations of PBDEs (24 congeners) in suspended particles have been decreasing since 2010 in the St. Lawrence River at two important sites, Lavaltrie (downstream of Montreal's MWE) and near Québec city (Lafrance et Robert, 2021). However, a number of other HFRs used as alternatives to the banned PBDE mixtures have been detected in landfills waste streams (Tongue *et al.*, 2019) and municipal wastewater (Cristale *et al.*, 2015 ; Kim *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2020). Another group of chemicals of concern are the per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) that have been used since the 1950s, particularly for their water-repellent properties, in a wide range of products (e.g., textiles, non-stick pans, firefighting foams, pesticides). A few PFAS have been listed under the Stockholm Convention on POPs, including perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its related compounds (2009), perfluorooctanoic acid (PFOA) and its related compounds (2019), and perfluorohexane sulfonate (PFHxS; 2022); long-chain carboxylic acids are currently under review by the Stockholm Convention (Stockholm Convention, 2023). Multiple PFAS have been reported in the St. Lawrence River Northern pike food web, notably perfluorobutanoic acid (PFBA), PFOA, and anionic precursors (e.g., 8:2 fluorotelomer sulfonic acid; 8:2 FTSA) in lower trophic levels (gammarids, insects and molluscs), while PFOS was predominant in the 12 species of fish at levels that frequently exceeded the Canadian Federal Wildlife Dietary Guidelines (FWiDG, , 4.6 for mammals and 8.2 ng/g for birds) (Government of Canada, 2016 ; Munoz *et al.*, 2022).

Lipids in fish play a significant role in the energy metabolism, growth, reproduction, and migration (Smolders *et al.*, 2003 ; Tocher *et al.*, 2008). Neutral lipids such as triacylglycerols (TAGs) serve as the primary energy reserve, meeting heightened energy demands during specific periods like reproduction, migration, and food scarcity (Borcier, 2019 ; Sprague *et al.*, 2012 ; Tocher *et al.*, 2008). Other lipid components serve various functions; such as the membrane lipids, including phospholipids (e.g., lysophosphatidylcholine (LPC), phosphatidylcholine (PC)) and sphingolipids (e.g., sphingomyelin (SM),

ceramide), that contribute to cellular functions such as structural dynamics, signaling, and cell regulation (e.g., growth, apoptosis). The dysregulation of any of these cellular functions can lead to health issues. Diacylglycerols (DAGs) are intermediate lipids that are precursors of TAG through the addition of one fatty acid (FA) by a DAG acyltransferase, or precursors of phospholipids through the addition of a phosphate group by a DAG kinase. Free FAs also play crucial roles in lipid metabolism, influencing diverse physiological processes such as inflammation and reproduction, based on their chain lengths, degree of unsaturation, and ethylenic bond positions (Gao *et al.*, 2023 ; Tocher, 2003b). Steroids, another group of lipids, play vital roles in immune responses, reproduction, and behavior. They not only regulate their own endocrine pathway, the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, but can also interact with other endocrine systems, such as the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis (Cowan *et al.*, 2017 ; Tokarz *et al.*, 2015).

The homeostasis between these different lipid groups is maintained by several signaling pathways leading to the expression of specific genes. For example, the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (*ppara*) gene, when activated by its ligand FAs, synthesizes the transcription factor PPAR α , which enables the transcription of several genes regulating FA β -oxidation (Varga *et al.*, 2011 ; Xu *et al.*, 1999). Specifically, PPAR α controls the levels of key enzymes participating in FA oxidation, thereby influencing not only energy metabolism but also modulating inflammatory response (Li *et al.*, 2015). Another transcription factor is sterol regulatory element-binding factors (SREBF) which activates genes involved in synthesis of TAG, cholesterol and FA synthesis, including the elongases of very long-chain FAs (*elovl*) gene (Goh *et al.*, 2020). FAs can be elongated through the addition of two carbons by ELOVL, which can result in the production of eicosanoids, that can modulate the immune response in fish (Geay *et al.*, 2015 ; Rowley *et al.*, 1995). Another key player in long-chain polyunsaturated FAs (PUFAs) biosynthesis is FA desaturase (FADS). The FADS enzyme catalyzes desaturation, a key step in converting essential FAs from the diet into forms that are important for various physiological functions, including membrane structure, signal transduction, and inflammation (Garrido *et al.*, 2019 ; Xie *et al.*, 2021). FAs can also be obtained by the action of other enzymes, such as phospholipase A 2 (PLA2), which can hydrolyze ester bonds of a glycerophospholipids to release FAs, such as arachidonic acid, contributing to inflammation and cellular signaling (Bao *et al.*, 2023 ; Okamura *et al.*, 2021). The regulation of these processes is essential to uphold a consistent lipid composition within tissues.

Dépatie *et al.* (2020) observed reduced mRNA levels from *ppara* transcription in pike collected downstream of the Montreal's MWWE. This observation suggests that PLA2, which is involved in the transformation of PC to LPC through the action of PPAR α , could be impacted by changes in PPAR α levels. These changes

influence the expression of genes involved in lipid metabolism, including those related to the synthesis and breakdown of FAs, like *pla2*. Furthermore, the lower relative contributions (%) in pike liver of LPC 18:2 and greater relative contribution of LPC 14:0, both recognized as markers for obesity and inflammation (Del Bas *et al.*, 2016 ; Ginsburg *et al.*, 1989 ; Rauschert *et al.*, 2016), were negatively (LPC 18:2) and positively (14:0) correlated with PBDE concentrations in pike liver (Dépatie *et al.*, 2020). These correlations suggested that PBDEs could induce oxidative stress and alter LPC levels in response to the effluent exposure in Northern pike liver (Dépatie *et al.*, 2020). Another study on the impact of Montreal's MWWE on Northern pike showed that male pike exposed to the effluent exhibited reduced hepatic mRNA levels of acyl-CoA oxidase (*acox1*), involved in peroxisomal β -oxidation as well as lower mRNA levels of fatty acid synthase (*fasn*) involved in FA synthesis (Reinling *et al.*, 2017). Moreover, Houde and al. (2013b) further observed the up-regulation of oxidative stress gene responses (glutathion-S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD) and cytochromes P450 1A1 (CYP1A1)) in gills of Northern Pike from this same area.

The objective of the present study was to investigate the effects on hepatic lipid metabolism and oxidative stress in St. Lawrence River Northern pike environmentally exposed to Montreal's primary MWWE. Specifically, lipidomic was employed to assess the relative concentrations of 1528 lipids and the mRNA levels of genes involved in the lipid metabolism (*ppara*, *srebfl*, *fads2*, *acox1*, *elovl5*, *pla2g4ab* (also known as *pla2g4a*), *pla2g12a* and *pla2g12b*) were measured in the same pike liver samples to evaluate differences in hepatic lipid metabolism of pike collected upstream and downstream of the Montreal's MWWE outfall. Lipid peroxidation was evaluated as a marker of oxidative stress in the same pike. These biological variables were further correlated with HFRs and PFAS concentrations, also quantified in pike liver. This study provides further insights into MWWE exposure-related effects on the hepatic lipid metabolism and oxidative stress in Northern pike from the St. Lawrence River, concurrently providing data on established HFRs, PFAS and emerging PFAS concentrations in a top predator fish of the St. Lawrence River.

2.3 Materials and Methods

2.3.1 Field sampling

Northern pike ($n = 38$) were sampled from mid-June to mid-July 2022 after the spawning period to minimize variations in liver lipid content. Fish were collected using a beach seine at three sites: one upstream (Baronnie Island; 8 males, 10 females) and two downstream (between îlet Vert; 7 males, 3 females and Beauregard Island; 1 males, 9 females) of the MWWE point of discharge in the St. Lawrence River (QC, Canada) (Fig. 2.1). The water temperature fluctuated depending on the day between 18 and 22°C.

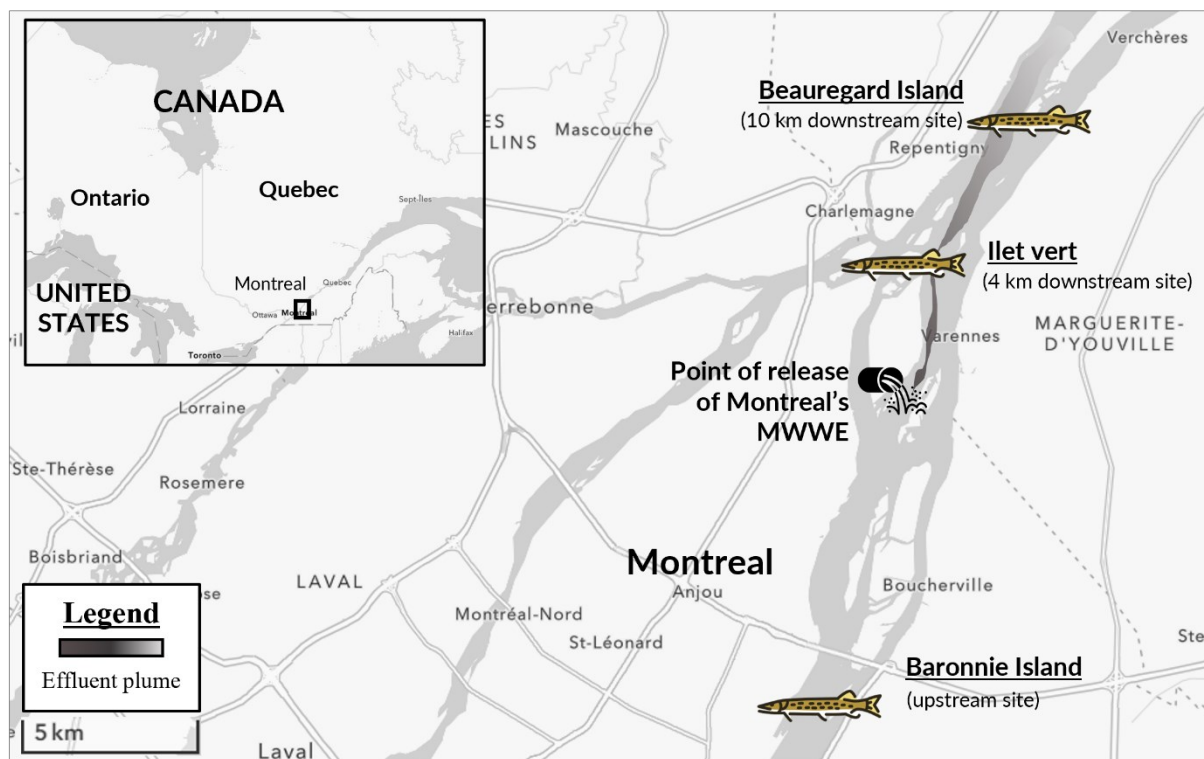


Figure 2.1 Sampling sites of Northern pike in the St. Lawrence River (QC, Canada).

Pike were immediately anesthetized in an eugenol solution (250 mg/L), weighed (± 0.01 g), measured (total and caudal length; ± 0.5 mm) (Table 2.2), and the liver was collected. The liver was weighed (± 0.01 g) and aliquots were transferred into RNase-free Eppendorf tubes with 1 mL RNAlater stabilization solution (Life Technologies Inc., Burlington, ON, Canada) for gene transcription analysis, Eppendorf tubes for lipidomic, and Nalgene General Long-Term Storage Cryogenic tubes for oxidative stress and chemical analyses. Samples were kept on ice in the field and stored at -20°C (contaminant analysis) or -80°C (all other analyses) in the laboratory. The gonads of each individual were preserved in 10% buffered formaldehyde for sexing at the Faculty of Veterinary Medicine of the Université de Montréal (Saint-Hyacinthe, QC, Canada) according to methods by Blazer and al. (2002). The pike heads were sent to the Canadian Rivers Institute (Fredericton, NB, Canada) for age determination by counting growth annuli of the cleithrum ($n = 38$), and when necessary (i.e., required confirmation from a second aging structure), the otoliths ($n = 20$) were used (Laine et al. 1991)(Table 2.2). The protocol for sampling and handling of pike was approved by the Animal Care Committee of Environment and Climate Change Canada, in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (Ottawa, ON, Canada).

2.3.2 Body condition

The hepatosomatic index (HSI) and Fulton's condition factor were calculated as proxy of the body condition of pike. HSI, representing the relative size of the liver to the total body mass, was calculated as follows: $HSI = (\text{liver mass (g)} / \text{body mass (g)}) \times 100$. This index provides information on the energy storage and metabolic activity in the liver. Additionally, the Fulton's condition factor, indicative of the overall health and well-being of the fish, was determined using the following equation: $K = (\text{body mass} / \text{total body length (cm)}^3) \times 100$.

2.3.3 Chemical analyses

2.3.3.1 Halogenated flame retardants

The concentrations of 34 PBDEs and 13 other HFRs (Table 2.3) were analyzed in pike liver at the Université du Québec à Montréal following established methods described by Dépatie et al. (2020), without modification. Briefly, sample aliquots of pike liver (~500 mg) were homogenized with diatomaceous earth, spiked with a 200-ppb internal standard solution (BDE-30, BDE-156, ^{13}C -BDE-209, and ^{13}C -*anti*-DP), and extracted with dichloromethane:n-hexane (50:50, v/v) using a pressurized liquid extraction system (Fluid Management Systems, Billerica, MA, USA). The total lipid content was determined gravimetrically. Sample clean-up was achieved using a PBDE-free silica acid-basic-neutral column followed by a PBDE-free neutral alumina column (Fluid Management Systems) eluted with dichloromethane:n-hexane (50:50, v/v). Identification and quantification of analytes were achieved using a gas chromatograph (GC) coupled with a single quadrupole mass spectrometer (MS) (Agilent Technologies 5975C Series, Palo Alto, CA, USA) in electron capture negative ionization mode (GC/MS-ECNI).

Quality control included analysis of blanks, repeated pike liver samples, and standard reference materials (SRM 1947, Lake Michigan fish tissue; National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Concentrations of six certified PBDE congeners in SRM 1947 ($n = 3$) exhibited $4 \pm 5\%$ (mean \pm SEM) variation from the certified values. Method limits of detection (MLODs) and method limits of quantification (MLOQs) were established based on replicate analyses ($n = 8$) of spiked matrix samples. Mean (\pm SEM) recoveries of internal standards in pike liver, blank, and SRM 1947 samples were as follow: BDE-30 ($95 \pm 2\%$), BDE-156 ($94 \pm 2\%$), ^{13}C -BDE-209 ($49 \pm 2\%$), and ^{13}C -*anti*-DP ($87 \pm 2\%$).

2.3.3.2 Per- and polyfluoroalkyl substances

The analysis of 76 PFAS (Table 2.4) in pike liver was performed at the Université de Montréal using methods described by Munoz et al. (2022) without modification. Briefly, liver samples were homogenized

with a pestle and mortar and an aliquot of 100 mg dry weight (after lyophilization) was transferred into a 15 mL polypropylene (PP) tube to which surrogate isotopically labeled internal standard (ILIS) was added. After resting for 1 h, samples underwent two extraction cycles consisting of the addition of 4 mL of solvent (10 mM NH₄OH in MeOH), high-speed vortexing (3,200 rpm, 0.5 min), ultrasonication in an ice-cold water bath (10 min), centrifugation (6,000 rpm, 5 min), and transfer of the supernatant to a fresh 15 mL PP tube. Sample extracts were concentrated to <2 mL and cleaned with Supelclean ENVI-Carb cartridges (250 mg/6 mL). The samples were then spiked with ILIS and concentrated to 300 μ L. The samples were further vortexed, centrifuged, and aliquoted for analysis using an ultra-high performance liquid chromatograph coupled to a high-resolution mass spectrometer (UHPLC-HRMS; Q-Exactive Orbitrap, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Separation of compounds was achieved using a Thermo Hypersil Gold C18 column and Thermo Hypercarb column, with a scan range of m/z 150-1000 (full scan mode) and a resolution of 70,000 FWHM at m/z 200.

2.3.4 Lipidomics

A total of 1,528 lipid features were analyzed in pike liver at the University of Victoria Genome BC Proteomics Centre. Briefly, 50 mg of pike liver aliquots were homogenized with isopropanol-chloroform (3:1, v/v) at 25 μ L/mg of raw tissue on a MM 400 mill mixer at a shaking frequency of 30 Hz using two 4-mm metal beads. Lipid extraction involved ultrasonication in an ice-water bath and centrifugation at 21,000 $\times g$ for 10 min. The supernatant of each sample was transferred into an LC injection micro-vial and an internal standard solution containing a deuterated lipid mixture (Avantis Ultimate Splash One, Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA) was added. Liver extracts were analyzed using a LC-multiple reaction monitoring MS (LC-MRM/MS) using a Agilent 1290 UHPLC coupled to a Sciex 7500 triple-quadrupole MS through an electrospray ion source, with positive and negative ion detection mode. Positive-ion analysis used a C8 (2.1 \times 50 mm, 2.5 μ m) column with a binary solvent gradient elution consisting of 2-mM ammonium formate-0.02% formic acid in water (solvent A) and 98% isopropanol-acetonitrile (2:1, v/v) (solvent B), while negative-ion analysis employed a C8 column (2.1 \times 100 mm, 2.5 μ m) with a gradient of 2-mM ammonium acetate in water (solvent A) and 98% of isopropanol-acetonitrile (2:1, v/v) (solvent B). LC-MS data were processed using Sciex OS 1.6.2 software. The relative abundance of individual lipid compounds was used rather than absolute concentrations due to the absence of internal standards for most features. For the statistical analyses, individual lipid percentages were used to evaluate their relative contributions in pike liver. This approach minimized the effects related to large inter-individual differences in relative abundance. Lipids were then grouped into 30 classes according to five biological functions: diacylglycerols (DAG) (Σ_{41} DAG), energetic reserve lipids (Σ_{340} energetic reserve lipids), FAs (Σ_{20} FA),

membrane lipids (\sum_{1103} membrane lipids), and steroid lipids (\sum_2 steroid lipids) A detailed list of lipid classes and biological function groups is available in Table 2.5.

2.3.5 Transcription analyses

2.3.5.1 RNA extraction and reverse transcription

Total RNA was extracted from liver samples stabilized in RNAlater solution (~15 mg) in Environment and Climate Change Canada laboratory using the RNeasy plus mini kit (QIAGEN, Toronto, ON, Canada), according to the manufacturer's instructions. RNA concentrations and purity were estimated with the NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, Mississauga, ON, Canada), while RNA integrity was verified using 1% agarose gel migration on the E-Gel™ Power Snap Electrophoresis System (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, Waltham, MA, USA). Reverse transcription to generate cDNA was performed using the Quanti-Tect® reverse transcription kit (QIAGEN) following the manufacturer's instructions. The cDNA was stored at -20°C until real-time quantitative PCR (RT-qPCR) and droplet digital PCR (ddPCR) analysis. For each gene, cDNA amplification was initially performed via qPCR. In cases where genes exhibited insufficient expression levels to yield dependable standard curves, a subsequent analysis using ddPCR was conducted. The RT-qPCR and ddPCR data in pike liver were expressed as fold change relative to the reference upstream site.

2.3.5.2 Primer design

The selection of gene sequences for Northern pike was made using the GenBank database (Tables 2.6 and 2.7) and previous publications from our group (Dépatie *et al.*, 2020 ; Reinling *et al.*, 2017). The selected genes included four reference genes previously used by Dépatie *et al.* (2020) and eight other genes involved in lipid metabolism. Primers, when not available, were designed using Primer-Blast from NCBI, and for each gene, a set of two or more primers were evaluated. The absence of secondary structures was assessed with Netprimer (Biosoft, Palo Alto, CA, USA). Primers were manufactured by Integrated DNA Technologies (Coralville, IA, USA). A quantitative PCR was carried out in duplicate for the selection of the best primer pair using a pool of cDNA from the samples ($n = 8$; final concentration of 1 ng/μL) and the amplification specificity was verified with the melting curve. The amplicons obtained with the primers were also validated using 4% agarose gel migration on the E-Gel™ Power Snap Electrophoresis System (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, Waltham, MA, USA).

2.3.5.3 Real-time quantitative PCR analysis

For each selected primer pair, a calibration curve (starting cDNA concentration of 0.77 ng/μL, 8 serial dilutions, 1/2-fold [*ppara*, *srebfl*, *fads2*, *tba* and *ubl4a*] and 1/3-fold [*b2mg* and *ppia*]) was used to estimate PCR efficiency (values between 97% and 107%) and limit of detection. Before running the samples, the optimal annealing temperature was validated (gradient from 54 to 64°C), using the CFX96 Touch™ Real-Time PCR detection system (Bio-Rad, Mississauga, ON, Canada). All reactions were performed in a final volume of 13 μL, each containing 6.5 μL of SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad), 5 μL of cDNA at appropriate concentration (for final reaction concentration from 0.08 to 0.19 ng/uL) (Table 2.8), 0.52 μL of each primer (forward and reverse) (final reaction concentration of 0.4 μM), and 0.46 μL DEPC-treated water (Ambion, Thermo Fisher Scientific, Burlington, ON, Canada). Thermal cycling conditions were the same as those for primer selection (Table 2.9). Each gene was produced in duplicate, and a No-template control (NTC) and No-reverse transcriptase control (NRT) were carried out. Data acquisition and analysis of gene expression data were performed with CFX Maestro software (Bio-Rad). The stability of *b2mg*, *ppia*, *tba* and *ubl4a* across the samples was evaluated using the reference gene selection tool implemented in the CFX Maestro software (Bio-Rad). Data were normalized against the reference genes *b2mg*, *ppia*, *tba* and *ubl4a* as they showed the most stable transcription level across samples and were reported as relative expression (fold-change) with respect to the upstream reference site using the $\Delta\Delta C_t$ method as $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

2.3.5.4 Droplet Digital PCR analysis

Before running the samples, the optimal annealing temperature was determined for each primer (gradient from 53 to 64°C) as well as the optimal cDNA concentration. All reactions were performed in a final volume of 20 μL, each containing 10 μL of QX200™ ddPCR™ EvaGreen Supermix (Bio-Rad), 5 μL of cDNA at appropriate concentration (final reaction concentration from 0.13 to 1.25 ng/uL) (Table 2.8), 4.6 μL of each primer (forward and reverse) (final reaction concentration of 0.46 μM), and 3μl of DNase free water. This mixture was placed in DG8 Cartridges (Bio-Rad) with 70 μL of QX200™ Droplet Generation Oil for EvaGreen (Bio-Rad) before being placed in the QX200 AutoDG droplet generator (Bio-Rad). The droplets were transferred to a 96-well plate, which, once sealed, was placed in the C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad). The thermal cycling conditions are detailed in Table 2.10. The plate was then loaded in a QX200 Droplet Reader (Bio-Rad) to assess positive and negative droplets in samples. Thresholds were set manually between the positive and negative clusters. Each gene was produced in duplicate and a No-template controls (NTC) and No-reverse transcriptase controls (NRT) were carried out. Reactions that failed quality control (droplet count <10,000, presence of "rain" between the positive and negative partitions and low resolution) were discarded from analysis. The ddPCR gene expression data (copies/μL) obtained

from QX Manager Software Standard Edition, Version 2.1 (Bio-Rad) were normalized to *b2mg*, *tba* and *ubl4a* as reference genes (copies/ μ L) and the geometric mean of control samples.

2.3.6 Oxidative stress

Oxidative stress analysis was conducted at the Université du Québec à Montréal by measuring lipid peroxidation levels in pike liver using a thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay in accordance with methods described by Sanchez et al. (2015). To homogenize the liver samples, a 1:5 ratio of liver sample to 1X PBS buffer was used. Homogenization involved disruption of this mixture using a Potter-Elvehjem pestle equipped with a Teflon pestle for 2 sec, followed by 30 sec of rest, and repeating this procedure five times. All samples were kept on ice during homogenization. Subsequent steps were carried out in triplicates in a 96-well microplate. A one-hour incubation at 50°C was carried out after the addition of the reagents, trichloroacetic acid (TCA) (50%) and thiobarbituric acid (TBA) (1.3%) to the supernatant collected after a centrifugation at 9,000 x g for 15 min at 4°C. The microplate was then placed on ice to stop the reaction, before reading the absorbance at 530 and 650 nm using a Bio Tek Epoch 2 microplate spectrophotometer (Agilent, Santa Clara, CA, USA). The results were expressed in nmol of malondialdehyde (MDA) per μ L of homogenate. The MDA concentrations were normalized to the total TAG concentrations in the same homogenates using the EnzyChrom™ Triglyceride Assay Kit (BioAssay Systems, Hayward, CA, USA), and expressed as nmol of MDA/g of TAG as suggested by Jentzsch et al. (1996). The quantification of TBARS (nmol) was performed using a standard curve ($R^2 = 0.99$) in tetramethoxypropane (TTMP), for which a serial dilution of five concentrations (0.0121-0.265 nmol/ μ L) was done in triplicate with the appropriate blanks (1X PBS buffer was used instead of supernatant).

2.3.7 Statistical analysis

The normality of variables was assessed using the Shapiro-Wilk test along with histogram visualization and the homoscedasticity using the Levene test. Differences in variables for pike between upstream and downstream sites were investigated for sexes separately using the Student T-test, Student's T-test with Welch correction or Mann-Whitney tests. Pearson or Spearman correlations were then used to test the strength of the relationships between variables. Statistical analyses were conducted using R version 4.3.1 (R Core Team, 2022, Vienna, Austria) with a significance threshold set at $\alpha = 0.05$.

2.4 Results

2.4.1 Body condition

There were no differences between the upstream and downstream sites for pike age, length, weight (statistical results not shown) and HSI for both females ($t = 0.27$, $df = 15.87$, $p = 0.79$) and males ($t = 1.11$, $df = 13.68$, $p = 0.28$), nor for the Fulton's condition factor (females: $t = -0.026$, $df = 18.30$, $p = 0.98$; males: $t = 1.20$, $df = 12.84$, $p = 0.25$).

2.4.2 HFR and PFAS concentrations

Among the HFRs, Σ_{34} PBDE concentrations accounted for more than 99% of the sum of all quantified HFRs in pike liver, followed by hexabromobenzene (HBB) (0.1%), pentabromoethylbenzene (PBEB) (0.02%), polybutylene terephthalate (PBT) (0.01%), and Σ_7 dechlorane (0.005%). The five PBDE congeners with the greatest concentrations in all samples were in decreasing order: BDE-47, -99, -100, -49, and -154/BB-153 (Table 2.11). There was no difference between the upstream and downstream sites for Σ_{34} PBDE concentrations in males, while a tendency was noted for higher concentrations of Σ_{34} PBDE in female pike collected downstream (100 ± 15 ng/g ww) compared to the upstream site (66 ± 9 ng/g ww) ($W = 31$, $p = 0.06$) (Table 2.1).

The concentrations of Σ_{76} PFAS were different between the sites for females only, with greater concentrations upstream (164 ± 18 ng/g ww) compared to downstream (111 ± 11 ng/g ww) ($t = 2.47$, $df = 19.64$, $p = 0.02$) (Table 2.1). Among the 76 PFAS analyzed, over 28 compounds were detected in samples including three for the first time in a St. Lawrence fish: 4:3 fluorotelomer carboxylate (4:3 acid), perfluorooctadecanoic acid (PFOcDA), and perfluoro-3,6-dioxahexanoic acid (3,6-OPFHpA) (Table 2.12 and 2.13). Perfluorocarboxylates (PFCA) and perfluorosulfonates (PFSA) were the two main PFAS classes determined in pike liver. Males accumulated lower concentrations of Σ_{14} PFCA (11 ± 1 ng/g ww) compared to females (22 ± 5 ng/g ww) at the upstream site ($W = 16$, $p = 0.03$). Long-chain PFCAs ($>C8$) were predominant, with three short-chain PFAS detected only downstream (PFBA [C4], perfluorohexanoic acid [PFHxA] [C6], and perfluoroheptanoic acid [PFHpA] [C7]) and one detected only upstream (PFPeA [C5]). For Σ_{10} PFSA, lower concentrations were determined in females downstream (89 ± 10 ng/g ww) compared to upstream (126 ± 14 ng/g ww) ($t = 2.25$, $df = 20$, $p = 0.04$). Two short-chain PFSA were detected in samples at both sites, namely perfluorohexane sulfonate (PFHxS [C6]) and perfluoroheptane sulfonate (PFHpS [C7]). PFOS contributed to 70% of the Σ_{76} PFAS in pike collected at the upstream site and 79% downstream.

Table 2.1 Mean (\pm SEM, range) of HFR and PFAS concentrations (ng/g ww) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's MWW in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the method limits of quantification (MLOQ). *Represents compounds that were statistically different between the two sites according to Student T-test ($p \leq 0.05$).

	Females				Males				
	MLOQ	Upstream		Downstream		Upstream		Downstream	
		% sample > MLOQ	(n = 10)	% sample > MLOQ	(n = 12)	% sample > MLOQ	(n = 8)	% sample > MLOQ	(HFR n = 7; PFAS n = 8)
HBB	0.01	60	0.08 \pm 0.03 (<MLOQ-0.2)	42	<MLOQ-1.3	50	0.07 \pm 0.04 (<MLOQ-0.3)	29	<MLOQ-0.3
PBEB	0.01	80	0.04 \pm 0.01 (<MLOQ-0.1)	50	0.01 \pm 0 (<MLOQ-0.03)	75	0.02 \pm 0 (<MLOQ-0.04)	71	0.04 \pm 0.02 (<MLOQ-0.1)
PBT	0.01	10	<MLOQ-0.01	50	0.03 \pm 0.01 (<MLOQ-0.2)	38	<MLOQ-0.09	14	<MLOQ-0.07
Σ_7 Dec ¹		10	<MLOQ-0.04	24	<MLOQ-0.02	0	<MLOQ	14	<MLOQ-0.04
Σ_{34} PBDE ²		100	66 \pm 9 (31-120)	100	100 \pm 15 (55-239)	100	75 \pm 14 (31-129)	100	90 \pm 26 (25-239)
Σ_{76} PFAS ³		100	164 \pm 18 (101-245)*	100	111 \pm 11 (44-180)*	100	132 \pm 17 (76-208)	100	120 \pm 15 (66-186)
Σ_{10} PFSA ⁴		100	126 \pm 14 (76-187)*	100	89 \pm 10 (32-153)*	100	85 \pm 6 (60-118)	100	100 \pm 14 (53-159)
Σ_{14} PFCA ⁵		100	22 \pm 5 (9-69)	100	14 \pm 1 (8-22)	100	11 \pm 1 (27-14)	100	15 \pm 2 (9-27)

See Table 2.3 and 2.4 for abbreviations.

¹ Σ_7 Dec: sum of Dec-602, -603, -604, -604 CB, Cplus, syn-DP, and anti-DP.

² Σ_{34} PBDE: sum of BDE-7, -10, -15, -17, -28/PBT, -47, -49, -66, -71, -77, -85, -99, -100, -119, -126, -138, -139, -140, -153, -154/BB-153, -171, -180, -183/Dec-604, -191, -196, -197/-204, -201, -203, -205, -206, -207, -208, and -209.

³ Σ_{76} PFAS: sum of PFECHS, PFHxSA, PFOSAm, 6:2 FTAB, FBSA, FHxSA, FOSA, FOSAA, EtFOSAA, EtFOSA, MeFOSAA, MeFOSA, PFBS, PFDoS, PFDS, PFHpS, PFHxS, PFNS, PFOS, PFPeS, PFPrS, PFTrDS, PFBA, PFDA, PFHpA, PFHxA, PFHxDA, PFNA, PFOA, PFOcDA, PFPeA, PFPrA, PFTeDA, PFTrDA, PFUnA, PFOANO, PFHxSA, PFOSAmS, 6:2 FTCA, 8:2 FTCA, 10:2 FTCA, 6:2 FTUCA, 8:2 FTUCA, 10:2 FTUCA, 3:3 Acid, 4:3 acid, 5:3 Acid, 7:3 Acid, 10:2 FTSA, 4:2 FTSA, 6:2 FTSA, 8:2 FTSA, 5:1:2 FtB, 5:3 FtB, 6:2 Cl-PFESA, 8:2 Cl-PFESA, 6:6 PFPI, 6:8 PFPI, 8:8 PFPI, ADONA, Gen-X, MeFBSA, PFEESA, PFMB, 3,6-OPFHpA, PFMPA, FDSA, PFDaA, PFETs, FHpSA, PFHxPA, PFOAB, PFOSNO, PFOSB, PFOPA and PFUDS.

⁴ Σ_{10} PFSA: sum of PFBS, PFDoS, PFDS, PFHpS, PFHxS, PFNS, PFOS, PFPeS, PFPrS and PFTrDS.

⁵ Σ_{14} PFCA: sum of PFBA, PFDA, PFDaA, PFHpA, PFHxA, PFHxDA, PFNA, PFOA, PFOcDA, PFPeA, PFPrA, PFTeDA, PFTrDA and PFUnA.

2.4.3 Lipidomics

Individual lipid compounds were determined using their relative abundance rather than absolute concentrations as internal standards were lacking for most features. The $\sum_{1,528}$ lipid in pike liver was different between sites in males only ($t = 2.98$, $df = 13.58$, $p = 0.01$), with a lower relative abundance downstream compared to upstream. According to the categorization based on five distinct biological functions, only the $\sum_{1,103}$ membrane lipids ($t = -2.24$, $df = 11.99$, $p = 0.04$) and \sum_2 steroid lipids ($t = -2.29$, $df = 12.37$, $p = 0.04$) were different in males between upstream and downstream sites (Table 2.15). The five most significant classes of membrane lipids that differed between sites in males were, in decreasing order: \sum_{43} Shingomyelin (SM), \sum_{144} phosphatidylserine (PS), \sum_{95} PC, \sum_{10} DihydroSM, and \sum_{84} phosphatidic acid (PA). Detailed statistical results for lipid classes are listed in Table 2.16.

2.4.4 Gene transcription

The expression of eight genes involved in the metabolism of lipid in the Northern pike were examined by RT-PCR (*ppara*, *srebf1* and *fads2*) and ddPCR (*acox1*, *elovl5*, *pla2g4ab*, *pla2g12a*, and *pla2g12b*). The mRNA levels of *ppara* were 0.3-fold lower in males collected downstream compared to upstream ($W = 36$, $p = 0.02$) and 0.7-fold lower for *pla2g4ab* in males ($t = 2.84$, $df = 13.31$, $p = 0.01$). The mRNA levels of the six other genes (*srebf1*, *fads2*, *elovl5*, *pla2g12a*, *pla2g12b*, and *acox1*) did not differ between sites (Fig. 2.2). Detailed statistical results for gene transcription are listed in Table 2.18.

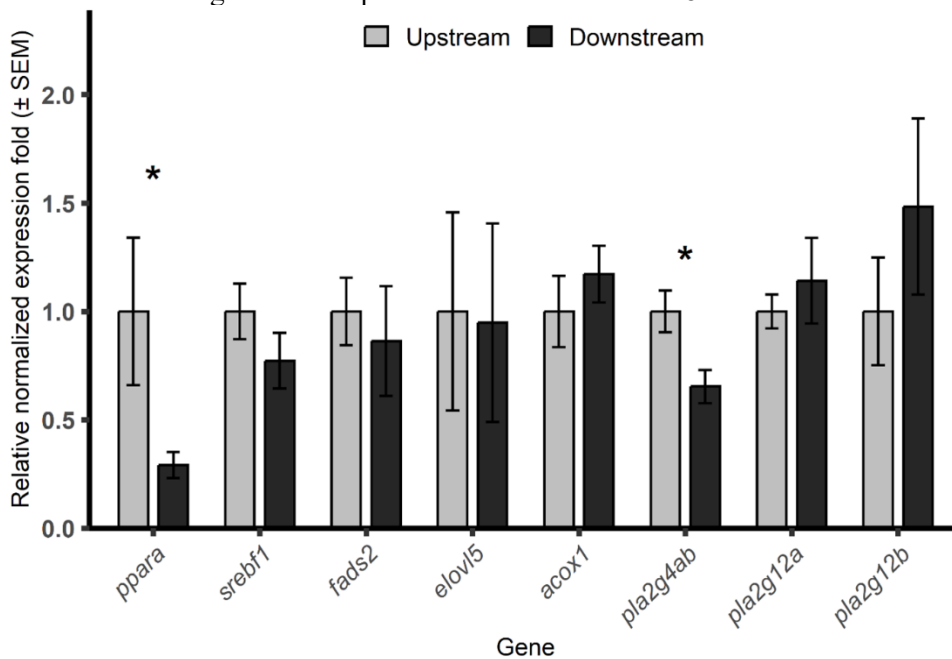


Figure 2.2 Liver mRNA levels (relative normalized expression fold (\pm SEM)) of genes involved in lipid metabolism of male pike collected upstream ($n = 8$, except *ppara* with $n = 5$) and downstream ($n = 8$) of the Montreal's MWWE (Mann-Whitney U Test and Student t-test, *, $p \leq 0.05$).

2.4.5 Oxidative stress

The concentrations of MDA, normalized to the total TAG concentrations, did not differ between sites in both females ($t = 0.88$, $df = 19.22$, $p = 0.39$) and males ($t = 0.11$, $df = 13.75$, $p = 0.92$) (Table 2.17).

2.4.6 Relationships between variables

Liver Σ_{34} PBDE concentrations were negatively correlated with mRNA levels of *ppara* in male pike ($\rho = -0.73$, $p = 0.01$) (Fig. 2.3). Moreover, a negative correlation was found between Σ_2 steroid lipids and *pla2g4ab* mRNA levels in males ($r = -0.67$, $p = 0.004$) (Fig. 2.3). No correlation was found in females between any contaminants and biological variables.

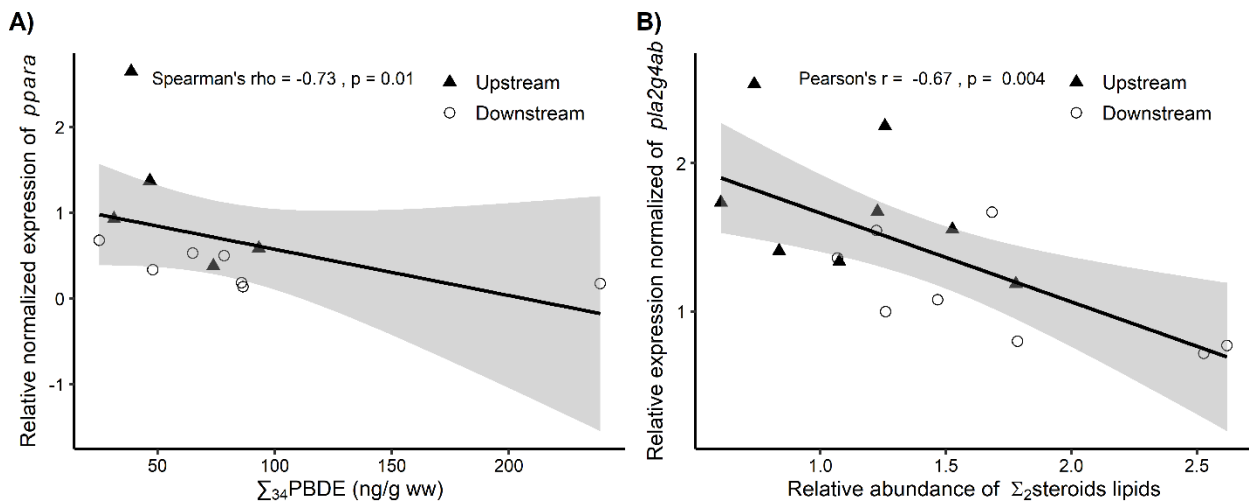


Figure 2.3 Correlations between A) the Σ_{34} PBDE concentrations (ng/g ww) and relative normalized expression of *ppara* (upstream, $n = 5$; downstream, $n = 7$) and B) relative abundance of Σ_2 steroid lipids and the relative normalized expression of *pla2g4ab* (upstream, $n = 8$; downstream, $n = 8$) in male pike liver collected at the Montreal's MWWWE discharge point in the St. Lawrence River. Grey field represents the 95% confidence interval and sites are identified with symbols for upstream (\blacktriangle) and downstream (\circ).

2.5 Discussion

2.5.1 Body condition

There was no difference between the upstream and downstream site, in both HSI and Fulton condition factor, for both sexes. Northern pike collected upstream and downstream of the effluent in 2014-2015 showed comparable Fulton's body condition index, for both sexes (Reinling *et al.*, 2017). However, HSI in wild fish exposed to a MWWWE can exhibit variation across species. For instance, fish species collected near the Dundas MWWWE outflows in Hamilton Harbour (ON, Canada) demonstrated divergent responses, with some

species, such as bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) and the invasive round goby (*Neogobius melanostomus*), exhibiting larger livers relative to their body mass, while green sunfish (*Lepomis cyanellus*) did not (Nikel *et al.*, 2021). These indices, however, should be interpreted with caution when derived from wild fish as factors, like the presence of prey in the stomach, can influence body mass.

2.5.2 HFR and PFAS concentrations

The absence of differences between sites for HFR concentrations in pike, females and males, could be explained by the consistent decline in PBDE concentrations in the environment and in fish (La Guardia *et al.*, 2024). For example, Lafrance and Robert (2021) reported a general decrease of water concentrations of BDE-209 (major congener quantified) near Lavaltrie, with concentrations ranging between 110 and 2,000 pg/L in 2008 and between 76 and 580 pg/L in 2018, while concentrations of BDE-99 (more toxic than BDE-209), were ranging between 49 and 160 pg/L in 2008 and between 20 and 49 pg/L in 2018. Decreases in environmental PBDE concentrations around Lake Ontario (ON, Canada) were also reported by Li *et al.* (2023) from 1996 to 2019 in air (with 12 years of half-lives for BDE-209), precipitation (with 6 years of half-lives for \sum PBDE), and Lake trout (*Salvelinus namaycush*) (with 6 years of half-lives for BDE-209). Monitoring of PBDE concentrations in dorsal muscle of 18 fish species collected between 2006 to 2013 from 41 sites in the Great Lakes (ON, Canada) also showed PBDE decline, with notably BDE-47, -99 and -153 concentrations decreasing by about 47-74%, 46-64% and 56-66%, respectively, in Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) at Thunder Bay (Lake Superior) and in Brown trout (*Salmo trutta*), Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Credit River (Lake Ontario) (Gandhi *et al.*, 2017). Another study has reported a rapid decrease (19.5% per year) for five PBDE concentrations (BDE-47, -99, -100, -153, -154) from 2000 to 2007 in Lake trout and walleye (*Sander vitreus*) from various sites in the Great Lakes, followed by a slower decrease (5.5% per year) from 2007 to 2016 (Zhou *et al.*, 2019). These declining trends suggest an overall reduction in source inputs and exposure, and could contribute to the observed lack of difference of hepatic \sum_{47} HFR and \sum_{34} PBDE concentrations between the upstream and downstream site of Montreal's MWWE. The two point comparison between liver PBDE concentrations from Reinling *et al.* (2017) (samples collected in 2014-2015) and the current study (samples collected in 2022) for pike from the same regions align with the observed trends in the Great Lakes. \sum_{34} PBDE concentrations in pike liver were lower at the downstream site for both sexes and fish of similar sizes in 2022 (100 ng/g ww for females and 90 ng/g ww for males) compared to 2014-2015 (167 ng/g ww for females and 393 ng/g ww for males).

To our knowledge, three PFAS, including one PFCA (PFOcDA), were quantified for the first time in St. Lawrence River fish. PFOcDA was detected in 97% of pike samples, while the other two were detected in

a minority of samples: 5% in downstream site only for 3,6-OPFHpA and 3% in upstream site only for 4:3 fluorotelomer carboxylate. Significant differences between sites in \sum_{76} PFAS and \sum_{10} PFSA concentrations in pike liver were found exclusively for females, with lower concentrations measured at the downstream site compared to upstream, which did not follow our prediction of higher PFAS inputs originating from Montreal's MWWE. Since PFAS are highly resistant to biological degradation during wastewater treatment processes (Appleman *et al.*, 2014 ; Pramanik, 2014 ; Zhang *et al.*, 2013), MWWE represent important local exposure sources of several PFAS for fish (Cervený *et al.*, 2018). A study from Houde *et al.* (2014b) indicated that whole body PFAS concentrations in yellow perch (*Perca flavescens*) from the St. Lawrence River decreased near the Montreal's MWWE discharge point, but tended to increase further downstream (≥ 10 km), suggesting that the bioavailability of PFAS may be reduced due to the complex composition of MWWE. As such, PFOS exhibits strong affinity to suspended particulate matter due to high organic matter content (Fang *et al.*, 2014). Another study on *Chironomus plumosus* larvae exposed to six PFAS (PFOS, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, and PFDoA) with six different concentrations of dissolved organic matter (0 to 50 mg/L) showed a decrease of the uptake rate constants (k_u) of PFAS due to the decrease of freely dissolved PFAS concentrations (Wen *et al.*, 2016). In this study, the molecular weight of dissolved organic matter also impacted the body burden of longer-chain PFAS including PFOS (C8), PFDA (C10), PFUnA (C11), and PFDoA (C12) in *Chironomus plumosus* larvae (Wen *et al.*, 2016). This suggests that the effect of dissolved organic matter on PFAS concentrations depends not only on the concentrations, but also on the molecular weight of dissolved organic matter. Thus, the lower concentrations of PFAS determined in liver of female pike collected downstream of the MWWE in our study may be attributed to reduced bioavailability resulting from the greater levels of organic matter at this particular site. However, since information related to the specific role of environmental factors (e.g., particulate matter content) on PFAS bioaccumulation in fish remains limited, caution must be exercised in the interpretation of these findings.

The absence of difference between sites for male pike in \sum_{76} PFAS and \sum_{10} PFSA concentrations could also be explained by multiple factors, including diet and sex-specific toxicokinetic factors. Consequently, Liu and al. (2023) observed sex-specific differences in molecular mechanisms involved in PFAS accumulation, resulting in hepatotoxicity in both sex of Common carp. The fish underwent a 14 days exposure in laboratory to 6:6 and 6:8 perfluoroalkylphosphinic acids (PFPIA) at 20 and 200 nM (Liu *et al.*, 2023). In male liver, the uptake of FAs was enhanced via an upregulation of the solute carrier family 27 number 1 (*slc27a1*) gene, and for *ppara* and its downstream genes *cyp1a*, acyl-CoA dehydrogenase (*acadm*), and carnitine palmitoyltransferase 1 (*cpt1*) (Liu *et al.*, 2023). In female liver, conversely, the oxidative decomposition of FAs was inhibited via the downregulation of *slc27a1*, *ppara*, *cyp1a*, *acadm*, and *cpt1* (Liu *et al.*, 2023). Lee et Schultz (2010) observed sex differences in the toxicokinetic of one oral dose of $170 \pm$

34 µg of PFOA in fathead minnows (*Pimephales promelas*), influencing elimination rates in a sex-dependent manner. Specifically, the plasma half-life of PFOA in female minnows was 6 h, while it was 69 h in male minnows (Lee et Schultz, 2010). They also evaluated the half-life in female minnows pretreated with synthetic androgen (trenbolone), which was increased to 25 h because of the delayed elimination of PFOA, while pretreatment in males with synthetic estrogen ethynylestradiol (EE2) had little effect on PFOA toxicokinetic. These findings indicated that PFOA elimination in fathead minnows can be modulated, at least in part, by treatment with sex steroids (Lee et Schultz, 2010). However, understanding of the sex-specific mechanisms involving uptake, accumulation, excretion, and the interaction between PFAS in fish, particularly when exposed to the complex mixture of contaminants in MWWE, remains limited.

2.5.3 Lipidomics

A lower relative abundance for \sum_{1528} lipid was observed among males collected downstream of the effluent. Higher percentages of \sum_{1103} membrane lipids (22% upstream, 29% downstream) and \sum_2 steroid lipids (1% upstream, 2% downstream) were also found in males. The lower relative abundance for \sum_{1528} lipid in males downstream can be primarily attributed to the tendency of lower TAGs % downstream (59%) than upstream (67%), given the dominance of this lipid class in both sites. TAGs are energetic reserve lipids primarily stored in the liver in fish and levels in fish exposed to contaminated sites may vary between species. For instance, the lower TAG levels found at the downstream site in the present study could be attributed to a higher energy demand associated with the MWWE exposure. A decrease in hepatic glycogen levels was reported in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) experimentally-exposed for 14 days to 0, 20 and 90% of tertiary MWWE (Ings *et al.*, 2012). This drop in glycogen was likely to cope with enhanced energy demand associated with MWWE exposure, since the production of glucose in response to increased energy demand is a key metabolic role of liver (Ings *et al.*, 2012). In contrast, Lazaro-Côté *et al.* (2021) reported greater liver TAG content in wild longnose dace (*Rhinichthys cataractae*) collected at three sites located downstream of a MWWE, compared to the reference upstream site, of the Bow River in Calgary (AB, Canada). The greater concentrations of \sum_{1103} membrane lipids in the liver of males, coupled with the tendency of lower TAG concentration downstream, may also be attributed to an increase in the utilization of TAG in membrane biogenesis, via the production of membrane lipids, such as phospholipids, in the endoplasmic reticulum (Fu *et al.*, 2012 ; van Meer *et al.*, 2008). Lower TAG serum concentrations (46 ± 0.2 mg/dL) were reported in *Channa punctatus* exposed to the Harduaganj thermal power plant effluent (Kasimpur, India) compared to fish collected from a nearby water body used for culture practices, used as reference (143 ± 0.2 mg/dL), while the phospholipid serum concentrations were higher at the impacted site (258 ± 0.04 mg/dL) compared to the reference site (199 ± 0.3 mg/dL) (Javed *et Usmani*, 2015). Although

these results show serum concentrations of TAGs and not concentration in the liver, concentrations in the bloodstream can be influenced by the liver's synthesis and release of TAGs (Fu *et al.*, 2012).

The higher relative abundance of Σ_2 steroid lipids observed in the livers of male Northern pike downstream of the Montreal's MWWE might be attributed to regulatory feedback mechanisms related to steroid hormones that could potentially influence the synthesis of steroid lipids. Many PFAS and other endocrine disruptors found in MWWE can interact with steroid hormone receptor (Chen *et al.*, 2019 ; Ivantsova *et al.*, 2023 ; Jenila *et al.*, 2023 ; Steeves, 2018). For example, in Northern pike collected downstream of Montreal's MWWE, relationships between vitellogenin (Vtg) gene expression in liver, Vtg activity in plasma and perfluorotridecanoic acid (PFTrA), perfluorotetradecanoic acid (PFTeA), and perfluorodecane sulfonate (PFDS) plasma concentrations were reported by Houde and al. (2013b). The expression of Vtg is closely linked to steroid hormone receptors in fish and can be measured to assess processes along the HPG-liver axis (Hachfi *et al.*, 2012 ; Steeves, 2018). Moreover, plasma sex steroid hormone concentrations have been reported to change in wild Brook stickleback (*Culaea inconstans*) following exposures to Wascana Creek wastewater effluents (SK, Canada), such as lower testosterone (T) and 17 β -estradiol (E2) in female stickleback (Tetreault *et al.*, 2012). Additionally, a study of Steeves (2018) reported higher liver expression levels of steroid hormone receptors, specially estrogen receptor alpha (ER α) and androgen receptor (AR), in male fathead minnows exposed to 10% Saskatoon MWWE (SK, Canada). In contrast, female exposed to 50% of Saskatoon effluent exhibited increased liver expression of ER α compared to control (Steeves, 2018). Given that the liver plays an important role in steroid hormone metabolism and is a major site for the synthesis of various enzymes involved in lipid metabolism, dysregulation from sex steroid hormones could ultimately have an impact on other lipid concentrations in the liver. Also, while the hepatic relative abundance of a broad range of lipids has been determined in this study, there are numerous other unidentified lipids that might have influenced the total lipid content, and consequently, their relative contribution.

2.5.4 Gene transcription

Given the reported down-regulation of *ppara* (Dépatie *et al.*, 2020) and *acox1* (Reinling *et al.*, 2017) in previous studies on Northern pike collected downstream of the Montreal's MWWE, a down-regulation of those two genes and a difference between sites in the transcription of *fads2*, *srebfl1*, *elovl5*, *pla2g12a*, *pla2g12b* and *pla2g4ab* genes were hypothesized. The lower hepatic levels of *ppara* mRNA in male pike collected downstream of Montreal's MWWE are consistent with Dépatie *et al.* (2020), who reported that Northern pike collected in 2014-2015 from the same sites showed hepatic mRNA levels 4-fold lower in the downstream site compared to upstream. Several studies have shown that the PPAR signaling pathway represents the initial molecular response in PFAS-induced hepatotoxicity in fish (Wang *et al.*, 2022 ; Wu *et*

al., 2022). For example, a study reported that exposure to 5 µg/L of 6:2 Cl-PFESA, also named F-53B, resulted in sex-specific alterations in hepatic transcripts in zebrafish, particularly in genes associated with the PPAR signaling pathway, like the upregulation in males of *pparab* (subtype of PPAR α) and the downregulation in females of *pparda* (subtype of PPAR β), with their downstream gene, such as phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (*pck1*), perilipin 2 (*plin2*) and cytochrome P450 family 7, subfamily A, member 1 (*cyp7a1*) (Shi *et al.*, 2019).

The correlation observed in this study between *ppara* transcription and \sum_{34} PBDE differs from the findings of Dépatie *et al.* (2020), who reported an absence of correlation between these variables in Northern pike liver collected from the same site. However, changes in MWW composition over time may have influenced the absence of correlation between *ppara* and \sum_{34} PBDE in Northern pike liver collected in 2014-2015 (Dépatie *et al.*, 2020), in contrast to the correlation observed in samples collected in 2022 from the present study.

No significant differences in *acox1* transcription between sites were found in the present study. This contradicts findings by Reinling *et al.* (2017), who reported a down-regulation of *acox1* in male pike collected in Montreal's MWW. This could be explained by the variability in the composition of MWW, as a complex mixture of contaminants, thus potentially contribute to the fluctuation of the observed effects on fish. For example, the higher liver concentration of HFR reported by Reinling *et al.* (2017) in Northern pike collected in 2014-2015, compared to our study, conducted in 2022, exemplify the temporal variability in contaminant levels that could overall affect the measured biological variables.

Many research suggests that *pla2g4ab* transcription could be altered as a result of response to contaminant exposure. It was reported that liver of zebrafish exposed to 5 µg/L of 6:2 Cl-PFESA had 905 genes that showed a fold-change of ≥ 2 that were stable in female fish but altered in males, comprising some associated with ether lipid metabolism (one downregulated and 8 upregulated) and arachidonic acid metabolism (three downregulated and three upregulated), such as *pla2g4ab* (Shi *et al.*, 2019). Moreover, ovarian *pla2g4ab* was upregulated in caged Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to the contaminant leakage of a waste disposal site in Kollevåg bay, located of the city of Bergen, Norway (Khan *et al.*, 2020). Another study showed that *pla2g4ab* was down-regulated in the gill of Crucian carp (*Carassius auratus*) exposed to environmental related concentrations of Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) (Liu *et al.*, 2022), a plasticizer that is released in the environment primary by wastewater treatment plants (Gao *et al.*, 2016). The findings from those studies, combined with our results, suggest that the observed down-regulation in *pla2g4ab* in

males collected from Montreal's MWWWE may be attributed to one or multiple contaminants present in the effluent.

Even though no difference in the transcription of *fads2*, *srebf1*, *elovl5*, *pla2g12a* and *pla2g12b* has been observed in the present study, it does not imply an absence of effects on the final enzyme activity, since the transcription of RNA from DNA is the first step in a series of processes. Indeed, alterations at the RNA level (splicing, transport, translation) or the enzyme level (protein fold, cofactor binding, substrate binding, feedback regulation) could have repercussion on overall gene expression.

The negative correlation between *pla2g4ab* transcription and the relative contribution of Σ_2 steroid lipids in pike liver identified in our study suggests that a decrease in the transcription of *pla2g4ab* corresponds to an increase of Σ_2 steroid lipids, which in this research includes only the lipid classes of bile acids (BAs) and cholesteryl esters (CEs). BAs are synthesized in liver from cholesterol, and the rate-limiting step for bile synthesis is regulated by cytochrome P450 7A1 (CYP7A1), which exhibits the highest expression in the liver in mammals (Craig *et al.*, 2023 ; Pikuleva, 2006), but with similar mechanisms in fish too, as suggested by Kortner *et al.*(2014) with a study on the effect on Atlantic salmon fed with cholesterol supplementation (1-5%) for 77 days, notably on the sterol metabolism. CEs serve as the transport and storage form of cholesterol, which are essential component of cell membranes and are known to be synthesized primarily in liver (Brown *et Sharpe*, 2016 ; Watkins, 2013). PLA2G4AB plays a major role in the biosynthesis of lipid mediators for membrane PC to LPC remodeling and inflammatory responses by the resulting production of arachidonic acid (Uyama *et al.*, 2012). The down-regulation of *pla2g4ab* gene observed in liver of male pike collected downstream compared to the upstream site suggested a decrease in PC/LPC remodeling and a decrease in arachidonic acid release, potentially influencing cell membrane structure composition and steroid lipid concentration (Chen *et al.*, 2023). However, it is challenging to establish specific details in their interconnectivity as these processes are highly regulated and interconnected, and changes in one pathway can have ripple effects on others.

2.5.5 Oxidative stress

The absence of lipid peroxidation (using TBARS) in both sexes was unexpected and contradicts the anticipated effects documented in the literature on the MWWWE impact on fish. Dépatie *et al.* (2020) suggested that the correlation between LPC 14:0 and PBDE concentrations, alongside a negative correlation between LPC 18:2 and PBDE concentrations in pike liver collected upstream and downstream of Montreal's MWWWE might be the result of oxidative stress, since LPC 14:0 and LPC 18:2 are recognized markers for obesity and inflammation and oxidative stress can induce changes in phospholipid profiles through

remodeling via the action of PLA2. Additionally, the up-regulation of GST and SOD in gill tissue of Northern pike collected in Montreal's MWWE also suggested a greater oxidative stress response for fish collected downstream of the MWWE, compared to fish collected upstream (Houde *et al.*, 2013b). Our results also contradict a previous study involving caged juveniles rainbow trout, located downstream of the Lives-sur-Meuse tertiary MWWE for 21 days in the Meuse River (Belgium) (Beghin *et al.*, 2022). In this study, trout were reported to have higher liver lipid peroxidation (TBARS) levels, compared to a reference group that were sampled at T0 to define the initial health status and baseline levels of markers of the trout batch obtained from a fish farm. However, it is important to acknowledge that tertiary treated wastewater does not have the same composition as primary treated one and TBARS levels in that study were expressed by protein concentration and not by TAGs levels, thus potentially explaining these results contradiction. Also, indicators of oxidative stress other than TBARS exist, and hence there is a possibility that other oxidative stress markers, such as antioxidant enzymes (e.g., SOD, catalase [CAT]) or oxidative balance between the oxidized/reduced glutathione (GSSG/GSH), might have been better to capture Montreal's MWWE exposure-related toxicity in pike.

2.6 Conclusion

The present study suggests that the lipid metabolism of Northern pike, especially in males, was disrupted by the exposure to a primary MWWE, notably through the downregulation of *ppara* and *pla2g4ab* transcription in liver, as well as imbalance in the relative contribution of $\sum_{1,103}$ membrane lipids and \sum_2 steroid lipids. Since only one correlation was found between biological variables and contaminant concentrations (i.e., *ppara* transcription and the \sum_{34} PBDE in males), the observed differences in lipid content between the reference and MWWE-impacted site is probably to be attributed to other contaminants, or mixture of contaminants, present in effluent. However, these results should be interpreted with caution, since, like any study with samples from non-controlled environment, confounding variables could interfere with the results. Additionally, numerous Student t-tests and Mann-Whitney tests were performed in this study without correction for the p-value threshold, and as a result, the interpretive value of the statistical analysis results is limited, and caution should be exercised when drawing conclusions based on these findings.

This research offers a deeper understanding into MWWE exposure-related effects on the lipid metabolism in the liver of Northern pike from a large freshwater river. It concurrently provides data on established HFRs, PFAS and newer PFAS concentrations in a top predator fish. The study also highlights the importance of primary MWWE variability and its potential impact on predatory fish. This becomes apparent when comparing our results with those of Northern pike liver collected in 2014-2015 in the same effluent, with variations in gene expression and lack of correlation in 2014-2015 present in 2022. To gain a more

comprehensive insight into the repercussions of primary MWWE on fish, it would be interesting to study other steps in gene expression, such as enzyme quantification, to understand if the observed changes in transcription levels ultimately result in changes in enzyme levels and better assess the potential impact on fish health. Additionally, investigating alternative biomarkers of oxidative stress and inflammatory responses in Northern pike exposed to Montreal's MWWE would help us better comprehend the health implications this exposure may have on a predatory fish. Additionally, investigating alternative markers of oxidative stress and inflammatory responses in pike exposed to Montreal's MWWE would help us better comprehend the health implications this exposure may have on these fish. Moreover, since the percentage of contribution to total liver lipids of Σ_2 steroid lipids was greater in males collected in the effluent, it would be of interest to quantify other steroid lipids, such as cholesterol or steroid hormones. Adding other contaminants as markers of exposure could also provide a more comprehensive understanding and characterization of the complex mixture of pollutants present in the water.

2.7 Acknowledgments

This study was funded by Environment and Climate Change Canada (to M.H.) and supports the St. Lawrence Action Plan. Supplemental funding was provided by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (to J.V.) and by the Advanced Technological Training network on the risk and remediation of Pollution in Urban Environment (to J.V.). The authors would like to thank M. Arseneau, B. Fortin, C. Beauvais and L. Mercier for assistance with field sampling, L. Wang for chemical analyses, J. Han and his team for lipid analyses, S. Lair and his team for sex analyses as well as T. Linnansaari and S. Ramos for age determination analyses. The authors declare they have no conflicts of interest.

Authors have no competing interests to declare.

2.8 Supporting information

Tableau 2.2 Sex, age and morphological information of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).

ID	Site	Sex	Final age	Total length (cm)	Mass (kg)	Liver mass (g)
IBO-B-1	Upstream	F	6+	68,50	1,84	20,00
IBO-B-2	Upstream	M	6+	58,00	1,03	12,00
IBO-B-3	Upstream	M	2+	55,00	1,10	18,00
IBO-B-4	Upstream	F	6+	64,00	1,38	13,00
IBO-B-5	Upstream	F	5+	63,00	1,38	10,00
IBO-B-6	Upstream	M	4+	62,00	1,33	16,00
IBO-B-7	Upstream	M	7+	64,00	1,22	14,00
IBO-B-9	Upstream	M	3+	57,50	1,03	9,00
IBO-B-10	Upstream	F	7+	73,00	1,96	31,00
IBO-B-11	Upstream	F	7+	73,00	2,10	30,00
IBO-B-12	Upstream	F	4+	59,50	0,40	10,00
IBO-B-13	Upstream	F	5+	63,00	1,30	20,00
IBO-B-14	Upstream	M	2+	55,50	0,98	11,00
IBO-B-15	Upstream	M	4+	60,00	1,12	12,00
IBO-B-16	Upstream	F	3+	60,00	1,05	13,00
IBO-B-17	Upstream	F	4+	60,50	1,23	15,00
IBO-B-18	Upstream	M	8+	69,00	1,65	27,00
IBO-B-19	Upstream	F	6+	70,50	1,59	36,00
IBO-B-20	Upstream	Not assessable	5+	61,00	0,93	10,00
IVT-B-1	Downstream	F	8+	76,50	2,17	18,00
IVT-B-2	Downstream	F	6+	75,00	1,88	30,00
IVT-B-3	Downstream	M	3+	54,00	0,79	9,00
IVT-B-4	Downstream	F	6+	66,00	1,39	13,00
IVT-B-5	Downstream	M	3+	55,00	0,82	7,00
IVT-B-6	Downstream	F	5+	65,00	1,36	21,00
IVT-B-8	Downstream	M	3+	58,00	1,01	10,00
IVT-B-9	Downstream	F	5+	64,00	1,45	12,00
IVT-B-10	Downstream	F	5+	61,50	1,16	19,00
IVT-B-11	Downstream	M	6+	58,50	0,85	6,00
IVT-B-12	Downstream	M	6+	61,50	1,21	20,00
IVT-B-13	Downstream	M	7+	64,00	1,49	11,00
IVT-B-14	Downstream	F	4+	58,00	1,05	17,00
IVT-B-15	Downstream	M	3+	51,00	0,73	9,00
IVT-B-16	Downstream	F	4+	62,00	1,29	19,00
IVT-B-17	Downstream	F	8+	55,50	0,98	16,00
IVT-B-18	Downstream	F	5+	62,00	1,23	10,00
IVT-B-19	Downstream	F	5+	67,00	1,74	29,00
IVT-B-20	Downstream	F	3+	52,00	0,80	7,00
IVT-B-21	Downstream	M	3+	53,50	0,82	10,00

Table 2.3 List of flame retardants analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).

PBDEs	
BDE-7	2,4-Dibromodiphenyl ether
BDE-10	2,6-Dibromodiphenyl ether
BDE-15	4,4'-Dibromodiphenyl ether
BDE-17	2,2',4-Tribromodiphenyl ether
BDE-28	2,4,4'-Tribromodiphenyl ether
BDE-47	2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-49	2,2',4,5'-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-66	2,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-71	2,3',4',6-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-77	3,3',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether
BDE-85	2,2',3,4,4'-Pentabromodiphenyl ether
BDE-99	2,2',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether
BDE-100	2,2',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether
BDE-119	2,3',4,4',6-Pentabromodiphenyl ether
BDE-126	3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether
BDE-138	2,2',3,4,4',5'-Hexabromodiphenyl ether
BDE-139	3,3',4,4',5-Pentabromodiphenyl ether
BDE-140	2,2',3,4,4',6'-Hexabromodiphenyl ether
BDE-153/BB-153	2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl Ether/2,2',4,4',5,5'- hexabromobiphenyl
BDE-154	2,2',4,4',5,6'-Hexabromodiphenyl ether
BDE-171	2,2',3,3',4,4',6-Heptabromodiphenyl ether
BDE-180	2,2',3,4,4',5,5'-Heptabromodiphenyl ether
BDE-183	2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether
BDE-184	2,2',3,4,4',6,6'-Heptabromodiphenyl ether
BDE-191	2,3,3',4,4',5',6-Heptabromodiphenyl ether
BDE-196	2,2',3,3',4,4',5,6'-Octabromodiphenyl ether
BDE-197	2,2',3,3',4,4',6,6'-Octabromodiphenyl ether
BDE-201	2,2',3,3',4,5',6,6'-Octabromodiphenyl ether
BDE-203	2,2',3,4,4',5,5',6-Octabromodiphenyl ether
BDE-204	2,2',3,4,4',5,6,6'-Octabromodiphenyl ether
BDE-205	2,3,3',4,4',5,5',6-Octabromodiphenyl ether
BDE-206	2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonabromodiphenyl ether
BDE-207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'-Nonabromodiphenyl ether
BDE-208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-Nonabromodiphenyl ether
BDE-209	Decabromodiphenyl ether
Other flame retardants	
PBEB	Pentabromoethylbenzene
HBB	Hexabromobenzene
PBT	Polybutylene Terephthalate
BEHTBP	Bis(2-ethylhexyl)tetrabromophthalate
DBDPE	Decabromodiphenylethane
OBIND	Octabromotrimethylphenyllindane
Dec-602	Dechlorane 602
Dec-603	Dechlorane 603
Dec-604	Dechlorane 604

Dec-604CB	Dechlorane 604 component B
syn-DP	Syn-Dechlorane Plus
anti-DP	Anti-Dechlorane Plus
Cplus	Chlordene Plus

Table 2.4 List of per- and polyfluoroalkyl substances analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).

PFAS	
Acronym	Name
PFECHS	Perfluoro-4-ethylcyclohexane sulfonate
PFHxSAm	Dimethylammoniopropyl perfluorohexane sulfonamide
PFOSAm	Perfluorooctane sulfonamidoalkyl amine
6:2 FTAB	6:2 fluorotelomer sulfonamidoalkyl betaine
FBSA	Perfluorobutane sulfonamide
FHxSA	Perfluorohexane sulfonamide
FOSA	Perfluorooctane sulfonamide
FOSAA	Perfluorooctane sulfonamidoacetic acid
EtFOSAA	N-ethyl-perfluorooctane sulfonamido acetic acid
EtFOSA	N-ethyl-perfluorooctane sulfonamide
MeFOSAA	N-methyl-perfluorooctane sulfonamido acetic acid
MeFOSA	N-methyl-perfluorooctane sulfonamide
PFBS	Perfluorobutane sulfonate
PFDoS	Perfluorododecane sulfonate
PFDS	Perfluorodecane sulfonate
PFHpS	Perfluoroheptane sulfonate
PFHxS	Perfluorohexane sulfonate
PFNS	Perfluorononane sulfonate
PFOS	Perfluorooctane sulfonate
PFPeS	Perfluorohexane sulfonate
PFPrS	Perfluoropropane sulfonate
PFTTrDS	Perfluorotridecane sulfonate
PFOANO	Perfluorooctane amidopropyl amine oxide
PFBA	Perfluorobutanoic acid
PFDA	Perfluorodecanoic acid

PFHpA	Perfluoroheptanoic acid
PFHxA	Perfluorohexanoic acid
PFHxDA	Perfluorohexadecanoic acid
PFNA	Perfluorononanoic acid
PFOA	Perfluorooctanoic acid
PFOcDA	Perfluorooctadecanoic acid
PFPeA	Perfluoropentanoic acid
PFPrA	Perfluoropropionoic acid
PFTeDA	Perfluorotetradecanoic acid
PFTrDA	Perfluorotridecanoic acid
PFUnA	Perfluoroundecanoic acid
PFHxSAmS	Trimethylammoniopropyl perfluorohexane sulfonamide
PFOSAmS	Trimethylammoniopropyl perfluorooctane sulfonamide
6:2 FTCA	6 :2 fluorotelomer carboxylate
8:2 FTCA	8 :2 fluorotelomer carboxylate
10:2 FTCA	10 :2 fluorotelomer carboxylate
6:2 FTUCA	6:2 fluorotelomer unsaturated carboxylic acids
8:2 FTUCA	8:2 fluorotelomer unsaturated carboxylic acids
10:2 FTUCA	10:2 fluorotelomer unsaturated carboxylic acids
3:3 Acid	3:3 fluorotelomer carboxylate
4:3 acid	4:3 fluorotelomer carboxylate
5:3 Acid	5:3 fluorotelomer carboxylate
7:3 Acid	7:3 fluorotelomer carboxylate
10:2 FTSA	10:2 fluorotelomer sulfonic acid
4:2 FTSA	4:2 fluorotelomer sulfonic acid
5:1:2 FtB	5:1:2 fluorotelomer betaine
5:3 FtB	5:3 fluorotelomer betaine
6:2 Cl-PFESA	6:2 chlorinated perfluoroalkylether sulfonate
8:2 Cl-PFESA	8:2 chlorinated polyfluorinated ether sulfonic acids
6:2 FTSA	6:2 fluorotelomer sulfonic acid
8:2 FTSA	8:2 fluorotelomer sulfonic acid
6:6 PFPiA	6:6 perfluoroalkylphosphinic acids
6:8 PFPiA	6:8 perfluoroalkylphosphinic acids

8:8 PFPiA	8:8 perfluoroalkylphosphinic acids
ADONA	Dodecafluoro-3H-4,8-dioxanonanoate
Gen-X	Hexafluoropropylene oxide dimer acid
MeFBSA	N-methyl-perfluorobutane sulfonamide
PFEESA	Perfluoro(2-ethoxyethane)sulphonic acid
PFMBA	Perfluoro(4-methoxybutanoic) acid
3,6-OPFHpA	Perfluoro-3,6-dioxaheptanoic acid
PFMPA	Perfluoro-3-methoxypropanoic acid
FDSA	Perfluorodecanesulfonamide
PFDoA	Perfluorododecanoate
PFEtS	Perfluoroethanesulfonate
FHpSA	Perfluoroheptane sulfonamide
PFHxPA	Perfluorohexylphosphonic acid
PFOAB	Perfluorooctane amidoalkyl betaine
PFOSNO	Perfluorooctane sulfonamidoalkyl amine oxide
PFOSB	Perfluorooctane sulfonamidoalkyl betaine
PFOPA	Perfluorooctylphosphonic acid
PFUdS	Sodium perfluoro-1-undecanesulfonate

Table 2.5 Number of individual lipids by class, grouped by biological function, analyzed in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of Montreal's WWTP effluent discharge point (QC, Canada).

Lipids			
Biological function	Number of individual lipids in this lipid class	Lipid class acronym	Lipid class name
Diacylglycerol	41	DAG	Diacylglycerol
Fatty acids	20	FA	Fatty acids
Energetic reserve	340	TAG	Triacylglycerol
	5	3-KDS	3-Ketosphinganine
	28	Cer	Ceramide
	43	SM	Shingomyéline
	10	Dihydro-SM	Dihydro shingomyéline
	11	Hex Cer	Hexosyl ceramide
	10	Hex2 Cer	Dihexosyl ceramide
	8	Hex3 Cer	Trihexosyl ceramide
	4	Sa	Shinganine
	1	Sph	Sphingosine
	1	SPC	Shingosylphosphorylcholine
	121	CL	Cardiolipin
	8	G	Ganglioside
Membrane lipids	22	LPA	Lysophosphatidic acid
	17	LPC	Lysophosphatidylcholine
	37	LPE	Lysophosphatidylethanolamine
	32	LPG	Lysophosphatidylglycerol
	28	LPI	Lysophosphatidylinositol
	34	LPS	Lysophosphatidylserine
	84	PA	Phosphatidic acid
	95	PC	Phosphatidylcholine
	88	PE	Phosphatidylethanolamine
	116	PG	Phosphatidylglycerol
	147	PI	Phosphatidylinositol
	144	PS	Phosphatidylserine
	9	ST	Sulfatide
Steroid lipids	8	BA	Bile acid
	16	CE	Cholesterylester

Table 2.6 List of genes, acronyms, and primer information used for real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) analysis in Northern pike liver collected upstream and downstream.

Gene name	Acronym	Species	Accession number	Primer	Sequence
<i>Target genes</i>					
Peroxisome proliferator-activated receptor alpha	<i>ppara</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_010883898.2	Forward	CTGAGCCCACGGATTTG
				Reverse	GTTGAGCTACGGTGATAGTG
Sterol regulatory element binding transcription factor 1	<i>srebf1</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_013135832.4	Forward	ACCACACTGAACCGTGATCC
				Reverse	GGCAGCTTGTGAGAGTCCAT
Fatty acid desaturase 2	<i>fads2</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_029114990.2	Forward	CCCCTTGTATGTTGTTGACGGT
				Reverse	CTGATTCCGTCTGCTGTCCT
<i>Reference genes</i>					
β 2 microglobulin precursor	<i>b2mg</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079123.1	Forward	TGTTGCCCTTGTTTTCTGCGTGGT
				Reverse	TGGCCGTATTTGCCAGGGTTGC
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	<i>ppia</i>	<i>Esox lucius</i>	BT080015.1	Forward	TGCTAAAACTGCTTGGCTGGATGG
				Reverse	TCGCTTTCGTCTTGCCGCTG
Tubulin α chain	<i>tba</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079618.1	Forward	GGTCACTACACCATCGGCAAGGA
				Reverse	ACAGGCGTTCATCAGCAGGGA
Ubiquitin-like protein 4A	<i>ubl4a</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079424.1	Forward	CAGCAGGCGAAAGGAGTGGAGT
				Reverse	TGCCAGGACGGTGGACAAAGT

Table 2.7 List of genes, acronyms and primer information used for digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR) analysis in Northern pike liver collected upstream and downstream.

Gene name	Acronym	Species	Accession number	Primer	Sequence
<i>Target genes</i>					
Acyl-coenzyme A oxidase1, palmitoyl	<i>acox1</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_010889413.5	Forward	GAGGAAGAGTGCCCAGATGAT
				Reverse	CAGGCGGGTATGAAGAAGGTG
Elongation of very long chain fatty acid elongase 5	<i>elovl5</i>	<i>Esox lucius</i>	NM_001310986.1	Forward	CGCATCACCCAGAGGTTAGA
				Reverse	AGTTATCCAGCAGCAGCCAT
Phospholipase A2 group IVAb	<i>pla2g4ab</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_013135127.4	Forward	GGACCCCTCCACATTGACTG
				Reverse	CTCCACATCTTGCCAGGGTT
Phospholipase A2 group XIA	<i>pla2g12a</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_010888398.5	Forward	GCAGTTCGGGTGTTGGGTTA
				Reverse	CTTCATAGAGCGGGGTCACG
Phospholipase A2 group XIIB	<i>pla2g12b</i>	<i>Esox lucius</i>	XM_010868108.5	Forward	CCCAACGGAGTGTGTCAGTA
				Reverse	TGCCCAGGTCAAACCTGGAATC
<i>Reference genes</i>					
β2 microglobulin precursor	<i>b2mg</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079123.1	Forward	TGTTGCCCTTGTTTTCTGCGTGGT
				Reverse	TGGCCGTATTTGCCAGGGTTGC
Tubulin α chain	<i>tba</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079618.1	Forward	GGTCACTACACCATCGGCAAGGA
				Reverse	ACAGGCGTTCATCAGCAGGGA
Ubiquitin-like protein 4A	<i>ubl4a</i>	<i>Esox lucius</i>	BT079424.1	Forward	CAGCAGGCGAAAGGAGTGGAGT
				Reverse	TGCCAGGACGGTGGACAAAGT

Table 2.8 Final cDNA reaction concentration in reaction mix for each gene for real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR).

Method	Gene	Final cDNA concentration for samples analysis (ng/μl)
RT-qPCR	<i>b2mg</i>	0.08
	<i>ppia</i>	0.08
	<i>tba</i>	0.1
	<i>ppara</i>	0.19
	<i>fads2</i>	0.1
	<i>srebf1</i>	0.1
ddPCR	<i>b2mg</i>	0.13
	<i>tba</i>	0.13
	<i>ubl4a</i>	0.13
	<i>acox1</i>	0.25
	<i>elovl5</i>	1.25
	<i>pla2g12a</i>	1.25
	<i>pla2g12b</i>	1.25
	<i>pla2g4ab</i>	1.25

β2 microglobulin precursor (*b2mg*); peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (*ppia*); tubulin α chain (*tba*); peroxisome proliferator- activated receptor alpha (*ppara*); fatty acid desaturase 2 (*fads2*); sterol regulatory element binding transcription factor 1 (*srebf1*); ubiquitin-like protein 4A (*ubl4a*); acyl-coenzyme A oxidase 1, palmitoyl (*acox1*); elongation of very long chain fatty acid elongase 5 (*elovl5*); phospholipase A2 group XIA (*pla2g12a*); phospholipase A2 group XIIB (*pla2g12b*) and phospholipase A2 group IVAb (*pla2g4ab*).

Table 2.9 Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) steps for primers validation and sample analysis.

Polymerase activation		30 sec, 95°C
Amplification, 40 cycles	Denaturation	15 sec, 95°C
	Annealing/extension	20 sec, 60°C
	Plate read	60°C
Melt curve analysis		31 sec, 65°C
60 cycles	Temperature augmentation	5 sec, 65°C + 0,5°C/cycle
	Plate read	65°C + 0,5°C/cycle

Table 2.10 Digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR) steps for sample analysis.

Denaturation		5 min, 95°C
Amplification, 40 cycles	Denaturation	30 sec, 95°C
	Annealing/extension	60 sec, 60°C
Enzyme deactivation		5 min, 4°C
		5 min, 90°C
Cooling		10 min, 4°C

Table 2.11 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the method limits of quantification (MLOQ). PBDEs not presented were below the MLOQ in all samples.

	Females				Males				
	MLOQ	Upstream		Downstream		Upstream		Downstream	
		% sample > MLOQ	(n = 10)		% sample > MLOQ	(n=12)	% sample > MLOQ	(n = 8)	% sample > MLOQ
BDE-47	0.02	100	31 \pm 4 (15-53)	100	53 \pm 9 (28-147)	100	33 \pm 5 (15-54)	100	44 \pm 12 (10-111)
BDE-99	0.04	100	13 \pm 2 (4-28)	100	18 \pm 3 (8-45)	100	15 \pm 3 (6-30)	100	9 \pm 2 (5-18)
BDE-100	0.04	100	8 \pm 1 (8-16)	100	11 \pm 1 (5-17)	100	11 \pm 3 (4-25)	100	16 \pm 7 (3-55)
BDE-49	0.02	100	4 \pm 0.5 (2-6)	92	5 \pm 1 (<MLOQ-13)	100	5 \pm 1 (2-9)	100	6 \pm 2 (1-18)
BDE-154/BB-153	0.01	100	4 \pm 0.5 (1-6)	100	5 \pm 1 (2-19)	100	4 \pm 1 (2-9)	100	5 \pm 1 (1-11)
BDE-153	0.02	90	2 \pm 1 (<MLOQ-6)	92	3 \pm 0.4 (<MLOQ-6)	100	3 \pm 1 (1-7)	100	3 \pm 1 (1-6)
BDE-209	0.29	90	2 \pm 0.3 (<MLOQ-2)	100	1 \pm 0.1 (0.5-2)	88	1 \pm 0.2 (<MLOQ-2)	100	1 \pm 0.3 (1-3)
BDE-66	0.02	90	1 \pm 0.1 (<MLOQ-2)	92	1 \pm 0.4 (<MLOQ-4)	100	1 \pm 0.2 (0.4-2)	100	2 \pm 1 (0.2-5)
BDE-28	0.01	90	1 \pm 0.1 (<MLOQ-1)	92	1 \pm 0.2 (<MLOQ-2)	88	0.5 \pm 0.1 (<MLOQ-1)	100	1 \pm 1 (0.2-5)
BDE-85	0.02	60	1 \pm 0.2 (<MLOQ-2)	67	1 \pm 0.1 (<MLOQ-2)	88	1 \pm 0.2 (<MLOQ-2)	71	1 \pm 1 (<MLOQ-4)
BDE-126	0.02	40	<MLOQ-2	58	0.3 \pm 0.2 (<MLOQ-2)	63	0.2 \pm 0.1 (<MLOQ-1)	86	1 \pm 0.2 (<MLOQ-1)
BDE-17	0.01	90	0.2 \pm 0.03 (<MLOQ-0.3)	92	0.2 \pm 0.03 (<MLOQ-0.4)	75	0.1 \pm 0.04 (<MLOQ-0.3)	100	0.5 \pm 0.2 (0.1-2)
BDE-7	0.01	60	0.02 \pm 0.01 (<MLOQ-0.1)	92	0.04 \pm 0.01 (<MLOQ-0.1)	63	0.01 \pm 0.01 (<MLOQ-0.03)	86	0.1 \pm 0.02 (<MLOQ-0.1)
BDE-10	0.01	60	0.01 \pm 0.003 (<MLOQ0.02)	67	0.01 \pm 0.005 (<MLOQ-0.1)	50	0.01 \pm 0.004 (<MLOQ-0.03)	71	0.02 \pm 0.01 (<MLOQ-0.04)
BDE-119	0.03	0	<MLOQ	8	1 \pm 1 (<MLOQ-10)	0	<MLOQ	0	<MLOQ
BDE-197/-204	0.07	0	<MLOQ	8	0.1 \pm 0.1 (<MLOQ-1)	0	<MLOQ	0	<MLOQ

See Table 2.3 for abbreviation

Table 2.12 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of detected per- and polyfluoroalkyl substances (other than PFCA and PFSA classes) in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the limit of detection (LOD).

Acronym	LOD	Females				Males			
		Upstream		Downstream		Upstream		Downstream	
		% sample > LOD	(n = 10)	% sample > LOD	(n = 12)	% sample > LOD	(n = 8)	% sample > LOD	(n = 8)
PFECHS	0.05	70	0.1 \pm 0.03 (<LOD-0.3)	83	0.3 \pm 0.1 (<LOD-1)	88	1 \pm 0.01 (<LOD-1)	50	0.2 \pm 0.1 (<LOD-0.5)
FBSA	0.02	100	1 \pm 0.2 (0.4-2.3)	100	1 \pm 0.1 (0.3-2)	100	0.4 \pm 0.1 (0.2-1)	100	1 \pm 0.3 (0.5-2)
FHxSA	0.02	80	0.4 \pm 0.1 (<LOD-1)	92	0.3 \pm 0.1 (<LOD-1)	38	<LOD-1	88	1 \pm 0.1 (<LOD-1)
FOSA	0.5	100	1 \pm 0.2 (0.2-2)	100	1 \pm 0.1 (0.2-2)	100	0.4 \pm 0.1 (0.1-1)	100	1 \pm 0.3 (0.2-3)
MeFoSAA	0.2	0	<LOD	8	<LOD-1	0	<LOD	13	<LOD-18
10:2 FTCA	0.2	0	<LOD	8	<LOD-0.2	0	<LOD	0	<LOD
4:3 acid*	0.05	10	<LOD-1	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
7:3 acid	0.2	20	<LOD-1	58	0.4 \pm 0.2 (<LOD-3)	0	<LOD	25	<LOD-1
6:2 FTSA	0.02	100	14 \pm 2 (6-26)	92	3 \pm 0.4 (<LOD-4)	100	24 \pm 8 (6-67)	100	4 \pm 1 (3-11)
ADONA	0.02	10	<LOD-0.2	8	<LOD-0.3	50	0.2 \pm 0.1 (<LOD-0.1)	0	<LOD
3.6-OPFHpA*	0.05	0	<LOD	8	<LOD-0.1	0	<LOD	13	<LOD-0.2

See Table 2.4 for abbreviations

See Table 2.13 for detected PFCAs (PFBA, PFDA, PFHpA, PFHxA, PFHxDA, PFNA, PFOA, PFOcDA, PFPeA, PFTeDA, PFTrDA and PFUnA) and detected PFSA (PFDS, PFHpS, PFHxS and PFOS)

* Compounds quantified for the first time in a fish from the St. Lawrence, to our knowledge

Table 2.13 Mean (\pm SEM, range) of concentration (ng/g ww) of perfluorocarboxylates (PFCAs) and perfluoroalkane sulfonates (PFSA) classes in Northern pike liver collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). Means were provided if at least 50% of the samples had concentrations of the compound greater than the limit of detection (LOD).

Class	Acronym	LOD	Females				Males			
			Upstream		Downstream		Upstream		Downstream	
			% sample > LOD	(n = 10)	% sample > LOD	(n=12)	% sample > LOD	(n = 8)	% sample > LOD	(n = 8)
PFCA	PFBA	0.1	0	<LOD	25	<LOD-0.8	0	<LOD	13	<LOD-1
	PFDA	0.01	100	7 \pm 1 (3-15)	100	4 \pm 0.6 (2-8)	100	4 \pm 0.4 (3-6)	100	14 \pm 0.8 (2-8)
	PFDoA	0.2	100	4 \pm 2 (1-23)	100	2 \pm 0.2 (2-3)	100	1 \pm 0.2 (1-2)	100	2 \pm 0.4 (1-4)
	PFHpA	0.05	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	13	<LOD-0.3
	PFHxA	0.05	0	<LOD	17	<LOD-0.03	0	<LOD	13	<LOD-8
	PFHxDA	0.05	100	1 \pm 0.1 (0.4-2)	100	1 \pm 0.1 (0.2-2)	100	0.7 \pm 1 (0.5-1)	100	4 \pm 0.1 (0.7-2)
	PFNA	0.02	100	2 \pm 0.3 (0.3-3)	100	1 \pm 0.2 (0.4-3)	100	1 \pm 0.2 (0.2-0.7)	75	1 \pm 0.1 (<LOD-1)
	PFOA	0.05	0	<LOD	33	<LOD-0.07	0	<LOD	13	<LOD-8
	PFOcDA*	0.1	90	0.4 \pm 0.1 (<LOD-1)	100	0.6 \pm 0.1 (<LOD-1)	83	0.5 \pm 0.06 (0.2-0.7)	100	0.5 \pm 0.2 (0.2-2)
	PFPeA	0.1	10	<LOD-0.2	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFPrA*	0.2	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFTeDA	0.01	90	1 \pm 1 (<LOD-12)	100	1 \pm 0.1 (0.3-1)	100	0.2 \pm 0.03 (0.3-2)	100	1 \pm 0.1 (0.7-2)
	PFTrDA	0.02	100	1 \pm 1 (1-6)	100	1 \pm 0.2 (0.5-2)	100	1 \pm 0.1 (0.3-2)	100	0.4 \pm 0.2 (1-2)
PFUnA	0.2	100	5 \pm 1 (2-9)	100	3 \pm 0.4 (1-6)	100	3 \pm 0.3 (1-4)	100	1 \pm 1 (2-6)	
PFSA	PFBS	0.01	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFDoS	0.05	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFDS	0.01	100	3 \pm 0.3 (2-4)	100	3 \pm 1 (1-11)	100	2 \pm 0.4 (1-2)	100	2 \pm 0.4 (1-4)
	PFHpS	0.01	90	0.05 \pm 0.01 (<LOD-0.1)	58	0.06 \pm 0.02 (<LOD-0.2)	90	0.01 \pm 0.01 (<LOD-0.04)	50	0.02 \pm 0.01 (<LOD-0.08)
	PFHxS	0.05	90	0.2 \pm 0.05 (<LOD-1)	75	0.3 \pm 0.1 (<LOD-1)	63	0.1 \pm 0.08 (<LOD-0.3)	75	0.2 \pm 0.08 (<LOD-1)
	PFNS	0.02	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFOS	0.2	100	123 \pm 13 (74-182)	100	86 \pm 10 (31-150)	100	84 \pm 13 (59-116)	100	97 \pm 13 (52-156)
	PFPeS	0.05	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
	PFPrS	0.1	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD
PFTrDS*	0.01	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	0	<LOD	

See Table 2.4 for abbreviations

* Compounds quantified for the first time in a fish from the St. Lawrence, to our knowledge

Table 2.14 Statistical results of Student T-test or Mann-Whitney *U* test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in concentrations of perfluorocarboxylates (PFCAs) and perfluoroalkane sulfonates (PFSA) classes in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).

Class	Acronym	Statistical results	
		Females ($n = 22$)	Males ($n = 16$)
PFCA	PFDA	†t = 2.36, df = 19.75, $p = 0.03^*$	†t = 0.19, df = 11.50, $p = 0.85$
	PFDoA	‡W = 77, $p = 0.2829$	†t = -2, df = 13, $p = 0.15$
	PFHxDA	‡W = 25, $p = 0.02^*$	‡W = 7, $p = 0.007^*$
	PFNA	‡W = 67, $p = 0.67$	†t = -0.48, df = 11.81, $p = 0.64$
	PFOcDA	†t = -3.3, df = 10.96, $p = 0.007^*$	†t = -1.63, df = 12.14, $p = 0.13$
	PFTeDA	‡W = 39, $p = 0.28$	†t = -2.45, df = 14, $p = 0.03^*$
	PFTTrDA	‡W = 57, $p = 0.87$	†t = -1.15, df = 14, $p = 0.27$
	PFUnA	†t = 1.90, df = 20, $p = 0.07$	†t = -0.68, df = 13.94, $p = 0.51$
PFSA	PFDS	‡W = 70, $p = 0.54$	†t = -1.65, df = 11.06, $p = 0.13$
	PFHpS	†t = -1.50, df = 7.61, $p = 0.17$	$n < 65\%$
	PFHxS	†t = -1.82, df = 12.56, $p = 0.09$	†t = -0.46, df = 2.57, $p = 0.68$
	PFOS	†t = 2.33, df = 19.53, $p = 0.03^*$	†t = -0.41, df = 10.38, $p = 0.69$

See Table 2.4 for abbreviations

† Student T-test (* $p \leq 0.05$)

‡ Mann-Whitney *U* test (* $p \leq 0.05$)

Excluded for males and females because there was less than 65% of samples > Limit of detection: PFBA, PFHpA, PFHxA, PFOA, PFPeA, PFPrA, PFBS, PFDoS, PFNS, PFPeS, PFPrS and PFTrDS.

Excluded for males only because there was less than 65% of samples > Limit of detection: PFHpS.

Table 2.15 Statistical results of Student T-test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in the relative contribution (%) for the sum of each lipid biological function (mean \pm SEM, range) in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).

Biological function	Females			Males		
	Upstream ($n = 10$)	Downstream ($n = 12$)	T-test results	Upstream ($n = 8$)	Downstream ($n = 8$)	T-test results
Energetic reserve	67 \pm 2 (58-77)	69 \pm 2 (60-76)	$t = -1, df = 18, p = 0.3$	67 \pm 2 (60-75)	59 \pm 2 (48-69)	$t = 2, df = 12, p > 0.05$
Membrane lipids	23 \pm 2 (15-30)	20 \pm 1 (16-27)	$t = 1, df = 17, p = 0.2$	22 \pm 1 (17-27)	29 \pm 2 (21-37)	$t = -2, df = 12, p = 0.04^*$
Fatty acids	5 \pm 0.4 (4-9)	6 \pm 0.2 (4-9)	$t = -0.3, df = 15, p = 0.8$	5 \pm 0.4 (3-7)	7 \pm 0.4 (5-8)	$t = -2, df = 14, p = 0.1$
Diacylglycerol	4 \pm 0.2 (3-5)	4 \pm 0.3 (3-6)	$t = -1, df = 18, p = 0.4$	4 \pm 0.2 (3-5)	4 \pm 0.3 (3-5)	$t = 1, df = 13, p = 0.6$
Steroid lipids	1 \pm 0.2 (0.4-2)	1 \pm 0.1 (0.5-2)	$t = 1, df = 17.87, p = 0.5$	1 \pm 0.1 (0.6-2)	2 \pm 0.2 (1-3)	$t = -2, df = 12, p = 0.04^*$

Table 2.16 Statistical results of Student T-test or Mann-Whitney *U* test (* $p \leq 0.05$) to test differences between sites in the relative contribution (%) for the sum of each lipid class in Northern pike (liver) collected upstream ($n = 18$) and downstream ($n = 20$) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada). The biological functions are arranged in descending order of relative contribution (%) importance. Each lipid class is also ranked in descending order of relative contribution (%) importance within its biological function.

Biological function of lipid classes	Number of lipid compound per class	T-test or Mann-Whitney results		
		Females ($n = 23$)	Males ($n = 16$)	
Energetic reserve	\sum_{340} TAG	†t = -0.98, df = 17.69, $p = 0.34$	†t = 2.55, df = 13.07, $p = 0.02$ *	
	\sum_{43} SM	†t = 1.49, df = 15.78, $p = 0.16$	†t = -2.36, df = 12.16, $p = 0.04$ *	
	\sum_{88} PE	†t = 1.61, df = 19.88, $p = 0.12$	†t = -1.76, df = 12.02, $p = 0.1$	
	\sum_{144} PS	†t = 0.73, df = 16.75, $p = 0.47$	†t = -2.68, df = 10.54, $p = 0.02$ *	
	\sum_{147} PI	†t = 1.79, df = 17.44, $p = 0.09$	†t = -1.99, df = 11.59, $p = 0.07$	
	\sum_{28} Cer	‡W = 76, $p = 0.31$	†t = -1.80, df = 8.92, $p = 0.11$	
	\sum_{95} PC	†t = 1.45, df = 17.60, $p = 0.16$	†t = -2.44, df = 11.75, $p = 0.03$ *	
	\sum_{10} Dihydro-SM	†t = 1.03, df = 19.82, $p = 0.31$	†t = -2.26, df = 14, $p = 0.04$ *	
	\sum_{116} PG	†t = 1.95, df = 18.99, $p = 0.07$	†t = -2.02, df = 12.62, $p = 0.07$	
	\sum_{84} PA	†t = 1.33, df = 20, $p = 0.20$	†t = -3.33, df = 11.69, $p < 0.01$ *	
	\sum_{37} LPE	†t = -0.36, df = 20, $p = 0.72$	†t = -1.47, df = 11.37, $p = 0.17$	
	\sum_{17} LPC	†t = 0.09, df = 19.96, $p = 0.93$	†t = -1.42, df = 10.46, $p = 0.18$	
	Membrane lipids	\sum_{121} CL	†t = 0.03, df = 19.96, $p = 0.98$	†t = -2.33, df = 9.93, $p = 0.04$ *
		\sum_{28} LPI	†t = 1.13, df = 19.99, $p = 0.27$	‡W = 32, $p = 1$
		\sum_{11} Hex Cer	‡W = 79, $p = 0.23$	†t = -1.32, df = 13.94, $p = 0.21$
		\sum_{22} LPA	†t = -0.12, df = 19.97, $p = 0.90$	†t = -1.59, df = 10.68, $p = 0.14$
		\sum_{32} LPG	‡W = 78, $p = 0.25$	‡W = 36, $p = 0.72$
\sum_{53} -KDS		‡W = 80, $p = 0.2$	‡W = 21, $p = 0.28$	
\sum_{4} Sa		†t = -0.01, df = 18.09, $p = 0.99$	†t = -2.68, df = 10.31, $p = 0.02$ *	
\sum_{34} LPS		‡W = 43, $p = 0.28$	†t = -2.67, df = 11.09, $p = 0.02$ *	
\sum_{9} ST		‡W = 48, $p = 0.46$	†t = -4.78, df = 13.66, $p < 0.01$ *	
\sum_{10} Hex2 Cer		‡W = 55, $p = 0.77$	‡W = 25, $p = 0.51$	
\sum_{8} G		†t = -2.29, df = 19.94, $p = 0.03$ *	‡W = 12, $p = 0.04$ *	
	\sum_{8} Hex3 Cer	‡W = 62, $p = 0.92$	‡W = 17, $p = 0.13$	
	SPC	‡W = 65, $p = 0.77$	†t = -0.31, df = 12.93, $p = 0.76$	
Fatty acids	\sum_{20} FA	†t = -0.32, df = 14.74, $p = 0.76$	†t = -2.19, df = 13.78, $p = 0.05$ *	
Diacylglycerol	\sum_{41} DAG	†t = -0.85, df = 17.85, $p = 0.41$	†t = -0.25, df = 12.93, $p = 0.81$	
Steroid lipids	\sum_{16} CE	†t = 0.84, df = 17.70, $p = 0.41$	†t = -1.59, df = 11.43, $p = 0.14$	
	\sum_{8} BA	‡W = 60, $p = 1$	‡W = 17, $p = 0.13$	

See Table 2.5 for abbreviations

† Student T-test (* $p \leq 0.05$)

‡ Mann-Whitney *U* test (* $p \leq 0.05$)

Table 2.17 Mean (\pm SEM, range) of malondialdehyde (MDA)/triacylglycerol (TAG) concentrations (mmol/mg) in Northern pike liver collected upstream (n = 18) and downstream (n = 20) of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).

	Females		Males	
	Upstream (n = 10)	Downstream (n = 12)	Upstream (n = 8)	Downstream (n = 8)
MDA/TAG (mmol/mg TAG)	20 \pm 2 (10-32)	17 \pm 2 (1-30)	16 \pm 3 (3-26)	16 \pm 3 (4-34)

Table 2.18 Liver mRNA levels as relative normalized expression fold (mean \pm SEM, range) of selected genes in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP (QC, Canada).

Method	Gene	Females			Males		
		Upstream (n = 9)	Downstream (n = 11)	Statistical results	Upstream (n = 8, <i>ppara</i> 5)	Downstream (n = 8)	Statistical results
RT-qPCR	<i>ppara</i>	0.67 \pm 0.1 (0.2-1)	0.66 \pm 0.1 (0.3-1.5)	†t = 0.03, df = 16, p = 1	1.18 \pm 0.4 (0.4-2.7)	0.34 \pm 0.1 (0.1-0.7)	‡W = 36, p = 0.02 *
	<i>fads2</i>	0.72 \pm 0.2 (0.3-1.7)	0.71 \pm 0.2 (0.3-2.2)	‡W = 54, p = 0.8	0.79 \pm 0.1 (0.4-1.3)	0.68 \pm 0.2 (0.3-2)	‡W = 42, p = 0.3
	<i>srebfl</i>	1.05 \pm 0.1 (0.7-1.6)	0.95 \pm 0.1 (0.3-1.6)	†t = 0.7, df = 17, p = 0.5	1.17 \pm 0.2 (0.6-1.9)	0.9 \pm 0.1 (0.4-1.7)	†t = 1, df = 14, p = 0.2
ddPCR	<i>acox1</i>	1.25 \pm 0.2 (0.5-2.2)	1.27 \pm 0.1 (0.5-2)	†t = -0.06, df = 15, p = 1	0.96 \pm 0.2 (0.6-2)	1.12 \pm 0.1 (0.5-1.6)	†t = -0.8, df = 13, p = 0.4
	<i>elovl5</i>	0.87 \pm 0.3 (0.1-2.6)	0.61 \pm 0.1 (0.1-1.4)	‡W = 47, p = 0.9	0.55 \pm 0.2 (0.01-1.9)	0.52 \pm 0.2 (0.01-2)	‡W = 31, p = 1
	<i>pla2g4ab</i>	1.81 \pm 0.3 (0.9-3.7)	1.45 \pm 0.2 (0.8-2.4)	‡W = 57, p = 0.6	1.71 \pm 0.2 (1.2-2.5)	1.12 \pm 0.1 (0.7-1.7)	†t = 3, df = 13, p = 0.01 *
	<i>pla2g12a</i>	0.66 \pm 0.1 (0.4-1)	0.65 \pm 0.1 (0.2-1.1)	†t = 0.03, df = 18, p = 1	0.69 \pm 0.1 (0.4-0.9)	0.79 \pm 0.1 (0.5-1.7)	‡W = 31, p = 1
	<i>pla2g12b</i>	0.83 \pm 0.1 (0.3-1.3)	0.83 \pm 0.2 (0.2-2.3)	‡W = 62, p = 0.4	0.62 \pm 0.2 (0.3-1.3)	0.92 \pm 0.3 (0.1-2.1)	‡W = 21, p = 0.3

†Student T-test (* p \leq 0.05)

‡Mann-Whitney U test (* p \leq 0.05)

Table 2.19 List of contaminants under the method limit of quantification (MLOQ) and limit of detection (LOD) in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).

Non detected compounds	
MLOQ	HFR
0.03	BDE-15
0.01	BDE-71
0.02	BDE-77
0.05	BDE-138
0.03	BDE-139
0.03	BDE-140
0.05	BDE-171
0.02	BDE-180
0.03	BDE-183/Dec-604
0.04	BDE-184
0.01	BDE-191
0.03	BDE-196
0.03	BDE-201
0.06	BDE-203
0.13	BDE-205
0.76	BDE-206
0.1	BDE-207
0.14	BDE-208
0.05	Cplus
0.6	DBCD
1.21	DBDPE
0.08	Dec-601
0.08	Dec-602
0.47	Dec-603
0.01	Dec-604CB
0.19	OBIND
LOD	PFAS
0.1	3:3 Acid
0.2	5:3 Acid
0.2	6:2 Cl-PFESA
0.02	8:2 Cl-PFESA
0.05	EtFOSA
0.02	EtFOSAA
	FOSAA
0.02	6:2 FTAB
0.1	5:1:2 FtB
0.05	5:3 FtB

0.01	6:2 FTCA
0.02	8:2 FTCA
0.05	4:2 FTSA
0.02	8:2 FTSA
0.05	10:2 FTSA
0.1	Gen-X
0.05	MeFBSA
0.02	MeFOSA
0.01	PFBS
0.05	PFDoS
0.05	PFHxPA
0.1	PFHxSAm
0.1	PFHxSAmS
0.2	PFNS
0.02	PFOAB
0.05	PFOANO
0.1	PFOPA
0.02	PFOSAm
0.05	PFOSAmS
0.05	PFOSB
0.05	PFOSNO
0.05	PFPeS
0.1	PFPrS
PFAS quantified for the first time but not detected	
0.2	FDSA
0.2	FHpSA
0.01	6:2 FTUCA
0.02	8:2 FTUCA
0.2	10:2 FTUCA
0.2	6:6 PFPiA
0.01	6:8 PFPiA
0.02	8:8 PFPiA
0.05	PFEESA
0.1	PFEtS
0.1	PFMBA
0.1	PFMPA
0.2	PFPrA
0.01	PFTTrDS
0.05	PFUdS

See table 2.3 and 2.4 for abbreviations

Table 2.20 List of correlations close and under alpha-cutoff value ($p < 0.05$) for Pearson correlations and Spearman's rank correlation coefficient in the liver of Northern pike collected upstream and downstream of the Montreal's WWTP in the St. Lawrence River (QC, Canada).

Sex	Biological variables	Correlation coefficient	<i>p</i> value
Female	\sum_{76} PFAS and \sum_{1103} membrane lipids	† $r = 0,417$	0,0535
	<i>pla2g4ab</i> and pufaLPC/pufaPC ratio	‡ $Rho = 0,444$	0,0515
Male	\sum_{1103} membrane lipids and \sum_{340} TAG	† $r = -0,982$	< 0,01*
	<i>pla2g4ab</i> and CE	† $r = -0,485$	0,057
	<i>pla2g4ab</i> and \sum_9 SFA	† $r = 0,487$	0,0555

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS); phospholipase A2 group IVA (*pla2g4ab*); Polyunsaturated fatty acid lysophosphatidylcholine (pufaLPC); Polyunsaturated fatty acid phosphatidylcholine (pufaPC); Triacylglycerol (TAG); Cholesterylester (CE) and Saturated fatty acid (SFA).

† Pearson correlation coefficient (* $p \leq 0.05$)

‡ Spearman's rank correlation coefficient (* $p \leq 0.05$)

2.9 References

- Appleman, T. D., Higgins, C. P., Quiñones, O., Vanderford, B. J., Kolstad, C., Zeigler-Holady, J. C., & Dickenson, E. R. V. (2014). Treatment of poly- and perfluoroalkyl substances in U.S. full-scale water treatment systems. *Water Research*, *51*, 246–255. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.067>
- Bao, Y., Shen, Y., Wu, Z., Tao, S., Yang, B., Zhu, T., Zhao, W., Zhang, Y., Zhao, X., Jiao, L., Wang, Z., Zhou, Q., & Jin, M. (2023). High dietary arachidonic acid produces excess eicosanoids, and induces hepatic inflammatory responses, oxidative stress and apoptosis in juvenile *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquaculture Reports*, *29*, 101506. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101506>
- Beghin, M., Paris-Palacios, S., Mandiki, S. N. M., Schmitz, M., Palluel, O., Gillet, E., Bonnard, I., Nott, K., Robert, C., Porcher, J.-M., Ronkart, S., & Kestemont, P. (2022). Integrative multi-biomarker approach on caged rainbow trout: A biomonitoring tool for wastewater treatment plant effluents toxicity assessment. *Science of The Total Environment*, *838*, 155912. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155912>
- Blazer, V. S. (2002). Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, *26*(1), 85–101. <https://doi.org/10.1023/A:1023332216713>
- Borcier, E. (2019). *Vulnérabilité de populations de poissons (Platichthys flesus) face aux multi-stress en estuaires: Une approche intégrative* [Phdthesis, Université de Bretagne occidentale - Brest]. <https://theses.hal.science/tel-02928183>
- Brown, A. J., & Sharpe, L. J. (2016). Chapter 11—Cholesterol Synthesis. In N. D. Ridgway & R. S. McLeod (Eds.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (Sixth Edition)* (pp. 327–358). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63438-2.00011-0>
- Canada, E. et C. climatique. (2020, July 3). *Évaluation de l'efficacité de la gestion des risques associés aux polybromodiphényléthers* [Évaluations]. <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/evaluation-substances-existantes/evaluation-efficacite-gestion-risques-associe-polybromodiphenylethers.html>
- Cervený, D., Grabic, R., Fedorova, G., Grabicova, K., Turek, J., Zlabek, V., & Randak, T. (2018). Fate of perfluoroalkyl substances within a small stream food web affected by sewage effluent. *Water Research*, *134*, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.066>
- Chen, J., Cai, B., Tian, C., Jiang, D., Shi, H., Huang, Y., Zhu, C., Li, G., & Deng, S. (2023). RNA Sequencing (RNA-Seq) Analysis Reveals Liver Lipid Metabolism Divergent Adaptive Response

to Low- and High-Salinity Stress in Spotted Scat (*Scatophagus argus*). *Animals*, 13(9), Article 9.
<https://doi.org/10.3390/ani13091503>

Chen, L., Lam, J. C. W., Hu, C., Tsui, M. M. P., Lam, P. K. S., & Zhou, B. (2019). Perfluorobutanesulfonate Exposure Skews Sex Ratio in Fish and Transgenerationally Impairs Reproduction. *Environmental Science & Technology*, 53(14), 8389–8397.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01711>

Cowan, M., Azpeleta, C., & López-Olmeda, J. F. (2017). Rhythms in the endocrine system of fish: A review. *Journal of Comparative Physiology B*, 187(8), 1057–1089.
<https://doi.org/10.1007/s00360-017-1094-5>

Craig, M., Yarrarapu, S. N. S., & Dimri, M. (2023). Biochemistry, Cholesterol. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513326/>

Cristale, J., Lacorte, S., & Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Catalonia, Spain. (2015). PBDEs versus NBFR in wastewater treatment plants: Occurrence and partitioning in water and sludge. *AIMS Environmental Science*, 2(3), 533–546.
<https://doi.org/10.3934/environsci.2015.3.533>

Del Bas, J. M., Caimari, A., Rodriguez-Naranjo, M. I., Childs, C. E., Paras Chavez, C., West, A. L., Miles, E. A., Arola, L., & Calder, P. C. (2016). Impairment of lysophospholipid metabolism in obesity: Altered plasma profile and desensitization to the modulatory properties of n-3 polyunsaturated fatty acids in a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 104(2), 266–279. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.130872>

Dépatie, C., Houde, M., & Verreault, J. (2020). Environmental exposure of northern pike to a primary wastewater effluent: Impact on the lipidomic profile and lipid metabolism. *Aquatic Toxicology*, 221, 105421. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105421>

Fang, S., Chen, X., Zhao, S., Zhang, Y., Jiang, W., Yang, L., & Zhu, L. (2014). Trophic Magnification and Isomer Fractionation of Perfluoroalkyl Substances in the Food Web of Taihu Lake, China. *Environmental Science & Technology*, 48(4), 2173–2182. <https://doi.org/10.1021/es405018b>

Fu, S., Watkins, S. M., & Hotamisligil, G. S. (2012). The Role of Endoplasmic Reticulum in Hepatic Lipid Homeostasis and Stress Signaling. *Cell Metabolism*, 15(5), 623–634.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.03.007>

- Gandhi, N., Gewurtz, S. B., Drouillard, K. G., Kolic, T., MacPherson, K., Reiner, E. J., & Bhavsar, S. P. (2017). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Great Lakes fish: Levels, patterns, trends and implications for human exposure. *Science of The Total Environment*, 576, 907–916. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.043>
- Gao, D.-W., & Wen, Z.-D. (2016). Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Science of The Total Environment*, 541, 986–1001. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.148>
- Gao, F., Shi, X., Pei, C., Zhao, X., Zhu, L., Zhang, J., Li, L., Li, C., & Kong, X. (2023). The role of ferroptosis in fish inflammation. *Reviews in Aquaculture*, 15(1), 318–332. <https://doi.org/10.1111/raq.12719>
- Garrido, D., Kabeya, N., Betancor, M. B., Pérez, J. A., Acosta, N. G., Tocher, D. R., Rodríguez, C., & Monroig, Ó. (2019). Functional diversification of teleost Fads2 fatty acyl desaturases occurs independently of the trophic level. *Scientific Reports*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47709-0>
- Geay, F., Wenon, D., Mellery, J., Tinti, E., Mandiki, S. N. M., Tocher, D. R., Debier, C., Larondelle, Y., & Kestemont, P. (2015). Dietary Linseed Oil Reduces Growth While Differentially Impacting LC-PUFA Synthesis and Accretion into Tissues in Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*). *Lipids*, 50(12), 1219–1232. <https://doi.org/10.1007/s11745-015-4079-8>
- Ginsburg, I., Ward, P. A., & Varani, J. (1989). Lysophosphatides enhance superoxide responses of stimulated human neutrophils. *Inflammation*, 13(2), 163–174. <https://doi.org/10.1007/BF00924787>
- Goh, P.-T., Kuah, M.-K., Chew, Y.-S., Teh, H.-Y., & Shu-Chien, A. C. (2020). The requirements for sterol regulatory element-binding protein (Srebp) and stimulatory protein 1 (Sp1)-binding elements in the transcriptional activation of two freshwater fish *Channa striata* and *Danio rerio* *elov15* elongase. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(4), 1349–1359. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00793-w>
- Government of Canada, E. and C. C. C. (2016, November 29). *Environment and Climate Change Canada—Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)*. <https://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=38e6993c-1>
- Hachfi, L., Couvray, S., Simide, R., Tarnowska, K., Pierre, S., Gaillard, S., Richard, S., Coupé, S., Grillasca, J., & Prévot-D’alvise, N. (2012). Impact of Endocrine Disrupting Chemicals [EDCs] on Hypothalamic-Pituitary-Gonad-Liver [HPGL] Axis in Fish. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4, 14–30.

- Houde, M., Douville, M., Despatie, S.-P., De Silva, A. O., & Spencer, C. (2013). Induction of gene responses in St. Lawrence River northern pike (*Esox lucius*) environmentally exposed to perfluorinated compounds. *Chemosphere*, *92*(9), 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.099>
- Houde, M., Giraudo, M., Douville, M., Bougas, B., Couture, P., De Silva, A. O., Spencer, C., Lair, S., Verreault, J., Bernatchez, L., & Gagnon, C. (2014). A multi-level biological approach to evaluate impacts of a major municipal effluent in wild St. Lawrence River yellow perch (*Perca flavescens*). *Science of The Total Environment*, *497–498*, 307–318. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.059>
- Ings, J. S., Oakes, K. D., Vijayan, M. M., & Servos, M. R. (2012). Temporal changes in stress and tissue-specific metabolic responses to municipal wastewater effluent exposure in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *156*(2), 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.04.002>
- Ivantsova, E., Lu, A., & Martyniuk, C. J. (2023). Occurrence and toxicity mechanisms of perfluorobutanoic acid (PFBA) and perfluorobutane sulfonic acid (PFBS) in fish. *Chemosphere*, *349*, 140815. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140815>
- Javed, M., & Usmani, N. (2015). Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *22*(2), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.09.021>
- Jenila, J. S., Issac, P. K., Lam, S. S., Oviya, J. C., Jones, S., Munusamy-Ramanujam, G., Chang, S. W., Ravindran, B., Mannacharaju, M., Ghotekar, S., & Khoo, K. S. (2023). Deleterious effect of gestagens from wastewater effluent on fish reproduction in aquatic environment: A review. *Environmental Research*, *236*, 116810. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116810>
- Kahatagahawatte, Y. B. P., & Hara-Yamamura, H. (2020). Review on Mixture Toxicity of Pharmaceuticals in Environmental Waters and Wastewater Effluents. In M. Kumar, F. Munoz-Arriola, H. Furumai, & T. Chaminda (Eds.), *Resilience, Response, and Risk in Water Systems: Shifting Management and Natural Forcings Paradigms* (pp. 105–126). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4668-6_6
- Khan, E. A., Zhang, X., Hanna, E. M., Bartosova, Z., Yadetie, F., Jonassen, I., Goksøyr, A., & Arukwe, A. (2020). Quantitative transcriptomics, and lipidomics in evaluating ovarian developmental effects in Atlantic cod (*Gadus morhua*) caged at a capped marine waste disposal site. *Environmental Research*, *189*, 109906. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109906>

- Kim, M., Guerra, P., Alae, M., & Smyth, S. A. (2014). Occurrence and fate of four novel brominated flame retardants in wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(23), 13394–13404. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3262-4>
- Kortner, T. M., Björkhem, I., Krasnov, A., Timmerhaus, G., & Krogdahl, Å. (2014). Dietary cholesterol supplementation to a plant-based diet suppresses the complete pathway of cholesterol synthesis and induces bile acid production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, 111(12), 2089–2103. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000373>
- La Guardia, M. J., Mainor, T. M., Luellen, D. R., Harvey, E., & Hale, R. C. (2024). Twenty years later: PBDEs in fish from U.S. sites with historically extreme contamination. *Chemosphere*, 141126. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141126>
- Lafrance, M., & Robert, C. (2021). *Contamination de l'eau par les toxiques*. Plan d'action Saint-Laurent 2011-2026. https://publications.gc.ca/collections/collection_2021/eccc/En154-129-2021-fra.pdf
- Lai, W. W.-P., Lin, Y.-C., Tung, H.-H., Lo, S.-L., & Lin, A. Y.-C. (2016). Occurrence of pharmaceuticals and perfluorinated compounds and evaluation of the availability of reclaimed water in Kinmen. *Emerging Contaminants*, 2(3), 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.05.001>
- Laine, A. O., Momot, W. T., & Ryan, P. A. (1991). Accuracy of Using Scales and Cleithra for Aging Northern Pike from an Oligotrophic Ontario Lake. *North American Journal of Fisheries Management*, 11(2), 220–225. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1991\)011<0220:AOUSAC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1991)011<0220:AOUSAC>2.3.CO;2)
- Lazaro-Côté, A., Faught, E., Jackson, L. J., & Vijayan, M. M. (2021). Wild longnose dace downstream of wastewater treatment plants display an obese phenotype. *Environmental Pollution*, 285, 117363. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117363>
- Lee, J. J., & Schultz, I. R. (2010). Sex Differences in the Uptake and Disposition of Perfluorooctanoic Acid in Fathead Minnows after Oral Dosing. *Environmental Science & Technology*, 44(1), 491–496. <https://doi.org/10.1021/es901838y>
- Li, W.-L., McDaniel, T. V., de Solla, S. R., Bradley, L., Dove, A., McGoldrick, D., Helm, P., & Hung, H. (2023). Temporal Trends of Legacy and Current-Use Halogenated Flame Retardants in Lake Ontario in Relation to Atmospheric Loadings, Sources, and Environmental Fate. *Environmental Science & Technology*, 57(38), 14396–14406. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04876>

- Li, Y., Zhao, Y., Zhang, Y., Liang, X., Zhang, Y., & Gao, J. (2015). Growth Performance, Fatty Acid Composition, Peroxisome Proliferator-activated Receptors Gene Expressions, and Antioxidant Abilities of Blunt Snout Bream, *Megalobrama amblycephala*, Fingerlings Fed Different Dietary Oil Sources. *Journal of the World Aquaculture Society*, 46(4), 395–408. <https://doi.org/10.1111/jwas.12203>
- Liu, M., Yi, S., Yu, H., Zhang, T., Dong, F., & Zhu, L. (2023). Underlying Mechanisms for the Sex- and Chemical-Specific Hepatotoxicity of Perfluoroalkyl Phosphinic Acids in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Science & Technology*, 57(39), 14515–14525. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04964>
- Liu, Y., Chen, Z., Li, S., Ding, L., Wei, X., Han, S., Wang, P., & Sun, Y. (2022). Multi-omics profiling and biochemical assays reveal the acute toxicity of environmental related concentrations of Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the gill of crucian carp (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 307, 135814. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135814>
- Marcogliese, D. J., Blaise, C., Cyr, D., de Lafontaine, Y., Fournier, M., Gagné, F., Gagnon, C., & Hudon, C. (2015). Effects of a major municipal effluent on the St. Lawrence River: A case study. *Ambio*, 44(4), 257–274. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0577-9>
- Montagner, C. C., Sodr , F. F., Acayaba, R. D., Vidal, C., Campestrini, I., Locatelli, M. A., Pescara, I. C., Albuquerque, A. F., Umbuzeiro, G. A., & Jardim, W. F. (2019). Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from S o Paulo State, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30, 614–632. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>
- Munoz, G., Mercier, L., Duy, S. V., Liu, J., Sauvé, S., & Houde, M. (2022). Bioaccumulation and trophic magnification of emerging and legacy per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in a St. Lawrence River food web. *Environmental Pollution*, 309, 119739. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119739>
- Nikel, K. E., McCallum, E. S., Mehdi, H., Du, S. N. N., Bowman, J. E., Midwood, J. D., Scott, G. R., & Balshine, S. (2021). Fish living near two wastewater treatment plants have unaltered thermal tolerance but show changes in organ and tissue traits. *Journal of Great Lakes Research*, 47(2), 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2021.01.017>
- Okamura, Y., Miyanishi, H., Kono, T., Sakai, M., & Hikima, J. (2021). Identification and expression of phospholipase A2 genes related to transcriptional control in the interleukin-17A/F1 pathway in the intestines of Japanese medaka *Oryzias latipes*. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 2, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100028>

- Pelletier, M., & Rondeau, M. (2013). *Les polybromodiphényléthers (PBDE) dans les matières en suspension et les sédiments du fleuve Saint-Laurent*. Plan d'action Saint-Laurent 2011-2026. https://publications.gc.ca/collections/collection_2014/ec/En14-67-2012-fra.pdf
- Pikuleva, I. A. (2006). Cholesterol-Metabolizing Cytochromes P450. *Drug Metabolism and Disposition*, 34(4), 513–520. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.008789>
- Pramanik, B. K. (2014). Occurrence of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the water environment and their removal in a water treatment process. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 5(2), 196–210. <https://doi.org/10.2166/wrd.2014.068>
- Rauschert, S., Uhl, O., Koletzko, B., Kirchberg, F., Mori, T. A., Huang, R.-C., Beilin, L. J., Hellmuth, C., & Oddy, W. H. (2016). Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(3), 871–879. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3525>
- Reinling, J., Houde, M., & Verreault, J. (2017). Environmental exposure to a major urban wastewater effluent: Effects on the energy metabolism of northern pike. *Aquatic Toxicology*, 191, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.08.003>
- Rowley, A. F., Knight, J., Lloyd-Evans, P., Holland, J. W., & Vickers, P. J. (1995). Eicosanoids and their role in immune modulation in fish—A brief overview. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(8), 549–567. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(95\)80041-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(95)80041-7)
- Sanchez, D., Houde, M., Douville, M., De Silva, A. O., Spencer, C., & Verreault, J. (2015). Transcriptional and cellular responses of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* to perfluoroalkyl phosphonic acids. *Aquatic Toxicology*, 160, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.12.002>
- Shi, G., Cui, Q., Wang, J., Guo, H., Pan, Y., Sheng, N., Guo, Y., & Dai, J. (2019). Chronic exposure to 6:2 chlorinated polyfluorinated ether sulfonate acid (F-53B) induced hepatotoxic effects in adult zebrafish and disrupted the PPAR signaling pathway in their offspring. *Environmental Pollution*, 249, 550–559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.032>
- Smolders, R., De Boeck, G., & Blust, R. (2003). Changes in cellular energy budget as a measure of whole effluent toxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(4), 890–899.

- Sprague, M., Dick, J. R., Medina, A., Tocher, D. R., Bell, J. G., & Mourente, G. (2012). Lipid and fatty acid composition, and persistent organic pollutant levels in tissues of migrating Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, L.) broodstock. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 171, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.021>
- Steeves, K. B. (2018). *Comparing the effects of two municipal wastewater effluents on reproductive output and endocrine status in the fathead minnow (Pimephales promelas)* [Thèse de doctorat, University of Saskatchewan]. <https://harvest.usask.ca/server/api/core/bitstreams/ab7c057f-5875-4cff-94ae-52ad3f052866/content>
- Stockholm Convention. (2019). *Listing of POPs in the Stockholm Convention*. <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509>
- Stockholm Convention. (2023). *Information on the 16 chemicals added to the Stockholm Convention*. BRSMes. <https://chm.pops.int/?tabid=2511>
- Tetreault, G. R., Bennett, C. J., Cheng, C., Servos, M. R., & McMaster, M. E. (2012). Reproductive and histopathological effects in wild fish inhabiting an effluent-dominated stream, Wascana Creek, SK, Canada. *Aquatic Toxicology*, 110–111, 149–161. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.01.004>
- Tocher, D. R. (2003). Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Tocher, D. R., Bendiksen, E. Å., Campbell, P. J., & Bell, J. G. (2008). The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280(1), 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.034>
- Tokarz, J., Möller, G., Hrabě de Angelis, M., & Adamski, J. (2015). Steroids in teleost fishes: A functional point of view. *Steroids*, 103, 123–144. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.06.011>
- Tongue, A. D. W., Reynolds, S. J., Fernie, K. J., & Harrad, S. (2019). Flame retardant concentrations and profiles in wild birds associated with landfill: A critical review. *Environmental Pollution*, 248, 646–658. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.103>
- Uyama, T., Ichi, I., Kono, N., Inoue, A., Tsuboi, K., Jin, X.-H., Araki, N., Aoki, J., Arai, H., & Ueda, N. (2012). Regulation of Peroxisomal Lipid Metabolism by Catalytic Activity of Tumor Suppressor H-rev107. *Journal of Biological Chemistry*, 287(4), 2706–2718. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.267575>

- van Meer, G., Voelker, D. R., & Feigenson, G. W. (2008). Membrane lipids: Where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/nrm2330>
- Varga, T., Czimmerer, Z., & Nagy, L. (2011). PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1812(8), 1007–1022. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.02.014>
- Wang, H., Liu, S., Zhang, C., Wan, Y., & Chang, H. (2020). Occurrence and mass balance of emerging brominated flame retardants in a municipal wastewater treatment plant. *Water Research*, 185, 116298. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116298>
- Wang, Q., Huang, J., Liu, S., Wang, C., Jin, Y., Lai, H., & Tu, W. (2022). Aberrant hepatic lipid metabolism associated with gut microbiota dysbiosis triggers hepatotoxicity of novel PFOS alternatives in adult zebrafish. *Environment International*, 166, 107351. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107351>
- Watkins, P. A. (2013). Fatty acids: Metabolism. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)* (pp. 220–230). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00103-3>
- Wen, W., Xia, X., Chen, X., Wang, H., Zhu, B., Li, H., & Li, Y. (2016). Bioconcentration of perfluoroalkyl substances by *Chironomus plumosus* larvae in water with different types of dissolved organic matters. *Environmental Pollution*, 213, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.018>
- Wu, D.-L., Cheng, L., Rao, Q.-X., Wang, X.-L., Zhang, Q.-C., Yao, C.-X., Chen, S.-S., Liu, X., Song, W., Zhou, J.-X., & Song, W.-G. (2022). Toxic effects and transcriptional responses in zebrafish liver cells following perfluorooctanoic acid exposure. *Aquatic Toxicology*, 253, 106328. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106328>
- Xie, D., Chen, C., Dong, Y., You, C., Wang, S., Monroig, Ó., Tocher, D. R., & Li, Y. (2021). Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. *Progress in Lipid Research*, 82, 101095. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101095>
- Xu, H. E., Lambert, M. H., Montana, V. G., Parks, D. J., Blanchard, S. G., Brown, P. J., Sternbach, D. D., Lehmann, J. M., Wisely, G. B., Willson, T. M., Kliewer, S. A., & Milburn, M. V. (1999). Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Molecular Cell*, 3(3), 397–403. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80467-0](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80467-0)

- Zhang, W., Zhang, Y., Taniyasu, S., Yeung, L. W. Y., Lam, P. K. S., Wang, J., Li, X., Yamashita, N., & Dai, J. (2013). Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in municipal wastewater treatment plants in economically developed areas of China. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 176, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.019>
- Zhou, C., Pagano, J., McGoldrick, D. J., Chen, D., Crimmins, B. S., Hopke, P. K., Milligan, M. S., Murphy, E. W., & Holsen, T. M. (2019). Legacy Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) Trends in Top Predator Fish of the Laurentian Great Lakes (GL) from 1979 to 2016: Will Concentrations Continue to Decrease? *Environmental Science & Technology*, 53(12), 6650–6659. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00933>

CONCLUSION

L'objectif de ce projet de maîtrise était d'évaluer les effets d'une exposition chronique à l'effluent primaire de la Ville de Montréal sur le métabolisme des lipides et le stress oxydatif dans le foie de grands brochets du fleuve Saint-Laurent. Grâce à l'utilisation de la lipidomique et de biomarqueurs, allant de la transcription génique à la condition corporelle, il a été possible de comparer les réponses biologiques des brochets entre un site en amont et un en aval du point de déversement de l'effluent dans le fleuve.

Les résultats de cette étude suggèrent que le métabolisme des lipides, particulièrement chez les mâles, est affecté par l'exposition à l'effluent d'eaux usées de la Ville de Montréal. En effet, les mâles prélevés en aval présentaient des concentrations hépatiques plus faibles de certains groupes fonctionnels de lipides, notamment les lipides membranaires et stéroïdes, en plus de présenter des niveaux de transcription plus bas pour le gène *ppara*, un régulateur majeur du métabolisme des lipides, et le gène *pla2g4ab*, impliqué dans le métabolisme des glycérophospholipides et de l'acide arachidonique. En tant que facteur de transcription, PPAR α peut contrôler les niveaux de transcription de plusieurs autres gènes impliqués dans la β -oxydation et la prolifération peroxysomale, tandis que PLA2G4AB peut libérer des acides gras à partir de lipides membranaires, et ainsi affecter la composition des membranes cellulaires et la production d'acide arachidonique, lui-même impliqué dans les réactions inflammatoires. Ces résultats suggèrent donc la présence de dérèglements dans l'homéostasie des lipides hépatiques chez les mâles, pouvant également potentiellement entraîner des répercussions sur les réactions inflammatoires.

De plus, des corrélations n'ont été observées que chez les mâles, soit entre les concentrations de PBDE et la transcription de *ppara* et entre les lipides stéroïdes et la transcription de *pla2g4ab*. En effet, plus les concentrations de PBDE étaient élevées, moins la transcription de *ppara* l'était. Ce résultat suggère que les PBDE contenus dans les eaux usées pourraient affecter le métabolisme des acides gras et de la prolifération peroxysomale. Par ailleurs, plus la transcription de *pla2g4ab* est faible, plus l'abondance relative des lipides stéroïdes est élevée. Ce résultat suggère que la transcription de *pla2g4ab*, bien que ce gène ne soit pas directement lié au métabolisme des lipides stéroïdes, pourrait tout de même l'affecter via une chaîne de répercussion.

Contrairement à l'hypothèse de départ, les niveaux de MDA, biomarqueur de stress oxydatif, se sont révélés similaires entre les sites amont et aval dans le foie des brochets. L'exploration d'autres biomarqueurs de stress oxydatif à divers niveaux biologiques serait pertinente. Par exemple, il serait intéressant de combiner des techniques permettant de faire des liens entre les niveaux biologiques, comme des techniques permettant

de quantifier les niveaux de transcription, des techniques omiques permettant de quantifier les enzymes correspondantes et des techniques permettant d'évaluer l'activité de ces enzymes. Ces informations permettraient potentiellement d'établir des liens entre différents niveaux biologiques et de mieux comprendre les mécanismes par lesquels les eaux usées peuvent affecter les poissons exposés. Cette approche multi-niveau serait également pertinente pour les gènes *ppara* et *pla2g4ab*, impliqués dans le métabolisme des lipides, dont la transcription a été affectée par l'effluent chez les brochets mâles dans cette étude.

Les résultats de cette étude mettent en évidence l'importance de prendre en compte les différences entre les sexes lors de l'évaluation de réponses biologiques à un effluent chez le poisson. En effet, seuls les mâles ont montré des différences dans les variables biologiques évaluées, tandis que les femelles présentaient plutôt des différences dans les concentrations hépatiques de PFAS. Ces observations pourraient être expliquées par des différences de diète ou encore de facteurs toxicocinétiques spécifiques au sexe.

Cette étude suggère l'effet de l'exposition à l'effluent de la Ville de Montréal sur le métabolisme des lipides chez les grands brochets du Saint-Laurent, spécifiquement chez les mâles. En effet, la transcription de gènes remplissant un rôle important pour le métabolisme des lipides en plus de l'abondance relative de certains groupes fonctionnels de lipides a été altérée chez ces derniers. Afin de mieux comprendre comment ces différences sont survenues, une perspective intéressante serait d'adopter une approche multi-niveau afin d'obtenir une vision plus complète et intégrée des processus biologiques impliqués dans ces changements, tout en contribuant à établir des liens plus précis, par exemple en évaluant la transcription du gène *ppara* et *pla2g4ab*, en quantifiant les niveaux de la protéine PPAR α et de l'enzyme PLA2G4A et leurs niveaux d'activité. Cette étude, combinée à celle de Reinling et al. (2017), pourrait éventuellement servir de point de comparaison temporel pour le suivi des PBDE dans les poissons du Saint-Laurent, mais aussi dans le cas de l'instauration du traitement tertiaire (ozonation) planifié sur la station d'épuration des eaux usées de Montréal. En terminant, les informations dans cette étude pourraient être intégrées dans la prise de décisions afin d'orienter le développement de réglementations et de politiques de gestion des eaux usées plus durables et responsables, contribuant de ce fait à la préservation à long terme de l'écosystème du fleuve Saint-Laurent.

BIBLIOGRAPHIE

- Appleman, T. D., Higgins, C. P., Quiñones, O., Vanderford, B. J., Kolstad, C., Zeigler-Holady, J. C. et Dickenson, E. R. V. (2014). Treatment of poly- and perfluoroalkyl substances in U.S. full-scale water treatment systems. *Water Research*, 51, 246-255.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.067>
- Arukwe, A. et Mortensen, A. S. (2011). Lipid peroxidation and oxidative stress responses of salmon fed a diet containing perfluorooctane sulfonic- or perfluorooctane carboxylic acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154(4), 288-295.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.06.012>
- Bao, Y., Shen, Y., Wu, Z., Tao, S., Yang, B., Zhu, T., Zhao, W., Zhang, Y., Zhao, X., Jiao, L., Wang, Z., Zhou, Q. et Jin, M. (2023). High dietary arachidonic acid produces excess eicosanoids, and induces hepatic inflammatory responses, oxidative stress and apoptosis in juvenile *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquaculture Reports*, 29, 101506. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101506>
- Baynes, A., Green, C., Nicol, E., Beresford, N., Kanda, R., Henshaw, A., Churchley, J. et Jobling, S. (2012). *Additional Treatment of Wastewater Reduces Endocrine Disruption in Wild Fish—A Comparative Study of Tertiary and Advanced Treatments*. <https://doi-org.proxy.bibliotheques.uqam.ca/10.1021/es204590d>
- Beghin, M., Paris-Palacios, S., Mandiki, S. N. M., Schmitz, M., Palluel, O., Gillet, E., Bonnard, I., Nott, K., Robert, C., Porcher, J.-M., Ronkart, S. et Kestemont, P. (2022). Integrative multi-biomarker approach on caged rainbow trout: A biomonitoring tool for wastewater treatment plant effluents toxicity assessment. *Science of The Total Environment*, 838, 155912.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155912>
- Bélangier, P. (2010). *Analyse écotoxicologique de l'effluent traité des eaux usées de la Ville de Montréal* [Essai].
https://belsp.uqtr.ca/id/eprint/591/1/Belanger_2010_eaux%20us%C3%A9es%20de%20la%20Ville%20de%20Montr%C3%A9al_A.pdf
- Bishop, B. (2019). *Rapport sur le projet de désinfection des eaux usées à l'ozone à la Station d'épuration Jean-R.-Marcotte (appels d'offres 10-11277, 10-11257 et 12-12107)*. Montréal - Bureau de l'Inspecteur Général. https://www.bigmtl.ca/wp-content/uploads/2020/06/rapport-projet-desinfection-des-eaux-usees-ozone_station-epuration-jean-r-marcotte.pdf
- Blazer, V. S. (2002). Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26(1), 85-101. <https://doi.org/10.1023/A:1023332216713>
- Borcier, E. (2019). *Vulnérabilité de populations de poissons (*Platichthys flesus*) face aux multi-stress en estuaires : une approche intégrative* [phdthesis, Université de Bretagne occidentale - Brest].
<https://theses.hal.science/tel-02928183>
- Brown, A. J. et Sharpe, L. J. (2016). Chapter 11 - Cholesterol Synthesis. Dans N. D. Ridgway et R. S. McLeod (dir.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (Sixth Edition)* (p. 327-358). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63438-2.00011-0>

- Cajaraville, M. P., Cancio, I., Ibabe, A. et Orbea, A. (2003). Peroxisome proliferation as a biomarker in environmental pollution assessment. *Microscopy Research and Technique*, 61(2), 191-202. <https://doi.org/10.1002/jemt.10329>
- Canada, E. et C. climatique. (2020, 3 juillet). *Évaluation de l'efficacité de la gestion des risques associés aux polybromodiphényléthers* [évaluations]. <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/evaluation-substances-existantes/evaluation-efficacite-gestion-risques-associe-polybromodiphenylethers.html>
- Carmona-Antoñanzas, G., Tocher, D. R., Taggart, J. B. et Leaver, M. J. (2013). An evolutionary perspective on Elovl5 fatty acid elongase: comparison of Northern pike and duplicated paralogs from Atlantic salmon. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1), 85. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-85>
- Cervený, D., Grabic, R., Fedorova, G., Grabicova, K., Turek, J., Zlabek, V. et Randak, T. (2018). Fate of perfluoroalkyl substances within a small stream food web affected by sewage effluent. *Water Research*, 134, 226-233. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.066>
- Chen, J., Cai, B., Tian, C., Jiang, D., Shi, H., Huang, Y., Zhu, C., Li, G. et Deng, S. (2023). RNA Sequencing (RNA-Seq) Analysis Reveals Liver Lipid Metabolism Divergent Adaptive Response to Low- and High-Salinity Stress in Spotted Scat (*Scatophagus argus*). *Animals*, 13(9), 1503. <https://doi.org/10.3390/ani13091503>
- Chen, L., Lam, J. C. W., Hu, C., Tsui, M. M. P., Lam, P. K. S. et Zhou, B. (2019). Perfluorobutanesulfonate Exposure Skews Sex Ratio in Fish and Transgenerationally Impairs Reproduction. *Environmental Science & Technology*, 53(14), 8389-8397. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01711>
- Cheng, J., Lv, S., Nie, S., Liu, J., Tong, S., Kang, N., Xiao, Y., Dong, Q., Huang, C. et Yang, D. (2016). Chronic perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure induces hepatic steatosis in zebrafish. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 176, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.04.013>
- Coutu, S., Rossi, L., Barry, D. A., Rudaz, S. et Vernaz, N. (2013). Temporal Variability of Antibiotics Fluxes in Wastewater and Contribution from Hospitals. *PLOS ONE*, 8(1), e53592. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053592>
- Covaci, A., Harrad, S., Abdallah, M. A.-E., Ali, N., Law, R. J., Herzke, D. et de Wit, C. A. (2011). Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour. *Environment International*, 37(2), 532-556. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.11.007>
- Cowan, M., Azpeleta, C. et López-Olmeda, J. F. (2017). Rhythms in the endocrine system of fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 187(8), 1057-1089. <https://doi.org/10.1007/s00360-017-1094-5>
- Craig, M., Yarrarapu, S. N. S. et Dimri, M. (2023). Biochemistry, Cholesterol. Dans *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513326/>
- Cristale, J., Lacorte, S. et Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Catalonia, Spain. (2015). PBDEs versus NBFR in wastewater treatment plants:

- occurrence and partitioning in water and sludge. *AIMS Environmental Science*, 2(3), 533-546. <https://doi.org/10.3934/environsci.2015.3.533>
- Dale, K., Yadetie, F., Horvli, T., Zhang, X., Frøysa, H. G., Karlsen, O. A. et Goksøyr, A. (2022). Single PFAS and PFAS mixtures affect nuclear receptor- and oxidative stress-related pathways in precision-cut liver slices of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Science of The Total Environment*, 814, 152732. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152732>
- Davies, K. J. A. (1995). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposia*, 61, 1-31. <https://doi.org/10.1042/bss0610001>
- Defo, M. A., Mercier, L., Beauvais, C., Brua, R. B., Tétreault, G., Fontaine, A., Couture, P., Verreault, J. et Houde, M. (2021). Time-dependent biological responses of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) exposed in situ to a major urban effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 222, 112483. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112483>
- Del Bas, J. M., Caimari, A., Rodriguez-Naranjo, M. I., Childs, C. E., Paras Chavez, C., West, A. L., Miles, E. A., Arola, L. et Calder, P. C. (2016). Impairment of lysophospholipid metabolism in obesity: altered plasma profile and desensitization to the modulatory properties of n-3 polyunsaturated fatty acids in a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 104(2), 266-279. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.130872>
- Dépatie, C., Houde, M. et Verreault, J. (2020). Environmental exposure of northern pike to a primary wastewater effluent: Impact on the lipidomic profile and lipid metabolism. *Aquatic Toxicology*, 221, 105421. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105421>
- Dreier, D. A., Bowden, J. A., Aristizabal-Henao, J. J., Denslow, N. D. et Martyniuk, C. J. (2020). Ecotoxicolipidomics: An emerging concept to understand chemical-metabolic relationships in comparative fish models. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 36, 100742. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2020.100742>
- Dulude, A.-M. (2016). *Déversement des eaux usées de la Ville de Montréal-Portrait de la situation*. https://belsp.uqtr.ca/id/eprint/1380/1/Dulude_eaux_us%C3%A9es_portrait_%202016_A.pdf
- Fang, S., Chen, X., Zhao, S., Zhang, Y., Jiang, W., Yang, L. et Zhu, L. (2014). Trophic Magnification and Isomer Fractionation of Perfluoroalkyl Substances in the Food Web of Taihu Lake, China. *Environmental Science & Technology*, 48(4), 2173-2182. <https://doi.org/10.1021/es405018b>
- Fu, S., Watkins, S. M. et Hotamisligil, G. S. (2012). The Role of Endoplasmic Reticulum in Hepatic Lipid Homeostasis and Stress Signaling. *Cell Metabolism*, 15(5), 623-634. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.03.007>
- Gandhi, N., Gewurtz, S. B., Drouillard, K. G., Kolic, T., MacPherson, K., Reiner, E. J. et Bhavsar, S. P. (2017). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Great Lakes fish: Levels, patterns, trends and implications for human exposure. *Science of The Total Environment*, 576, 907-916. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.043>
- Gandhi, V. et Shah, K. (2021). *Advances in Wastewater Treatment I*. Materials Research Forum LLC.
- Ganzoury, M. A., Ghasemian, S., Zhang, N., Yagar, M. et de Lannoy, C.-F. (2022). Mixed metal oxide anodes used for the electrochemical degradation of a real mixed industrial wastewater. *Chemosphere*, 286, 131600. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131600>

- Gao, D.-W. et Wen, Z.-D. (2016). Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Science of The Total Environment*, 541, 986-1001. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.148>
- Gao, F., Shi, X., Pei, C., Zhao, X., Zhu, L., Zhang, J., Li, L., Li, C. et Kong, X. (2023). The role of ferroptosis in fish inflammation. *Reviews in Aquaculture*, 15(1), 318-332. <https://doi.org/10.1111/raq.12719>
- Garrido, D., Kabeya, N., Betancor, M. B., Pérez, J. A., Acosta, N. G., Tocher, D. R., Rodríguez, C. et Monroig, Ó. (2019). Functional diversification of teleost Fads2 fatty acyl desaturases occurs independently of the trophic level. *Scientific Reports*, 9(1), 11199. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47709-0>
- Geay, F., Wenon, D., Mellery, J., Tinti, E., Mandiki, S. N. M., Tocher, D. R., Debier, C., Larondelle, Y. et Kestemont, P. (2015). Dietary Linseed Oil Reduces Growth While Differentially Impacting LC-PUFA Synthesis and Accretion into Tissues in Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*). *Lipids*, 50(12), 1219-1232. <https://doi.org/10.1007/s11745-015-4079-8>
- Ginsburg, I., Ward, P. A. et Varani, J. (1989). Lysophosphatides enhance superoxide responses of stimulated human neutrophils. *Inflammation*, 13(2), 163-174. <https://doi.org/10.1007/BF00924787>
- Gobeil, C., Rondeau, B. et Luc, B. (2004). *Contribution of Municipal Effluents to Metal Fluxes in the St. Lawrence River*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es049335x>
- Goh, P.-T., Kuah, M.-K., Chew, Y.-S., Teh, H.-Y. et Shu-Chien, A. C. (2020). The requirements for sterol regulatory element-binding protein (Srebp) and stimulatory protein 1 (Sp1)-binding elements in the transcriptional activation of two freshwater fish *Channa striata* and *Danio rerio* *elov15* elongase. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(4), 1349-1359. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00793-w>
- Gouvernement du Canada, E. et C. climatique C. (2016, 29 novembre). *Environnement et Changement climatique Canada - Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)*. <https://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=Fr&n=38E6993C-1#toc010c>
- Government of Canada, E. and C. C. C. (2016, 29 novembre). *Environment and Climate Change Canada - Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)*. <https://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=38e6993c-1>
- Hachfi, L., Couvray, S., Simide, R., Tarnowska, K., Pierre, S., Gaillard, S., Richard, S., Coupé, S., Grillasca, J. et Prévot-D'Alvise, N. (2012). Impact of Endocrine Disrupting Chemicals [EDCs] on Hypothalamic-Pituitary-Gonad-Liver [HPGL] Axis in Fish. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4, 14-30.
- Hébert, N., Gagné, F., Cejka, P., Cyr, D., Marcogliese, D. J., Blaise, C., Pellerin, J. et Fournier, M. (2008). The effects of a primary-treated municipal effluent on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Exposure duration and contribution of suspended particles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(3), 258-264. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.06.007>

- Henderson, R. J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Archiv für Tierernaehrung*, 49(1), 5-22. <https://doi.org/10.1080/17450399609381859>
- Hinton, D. E. (1989). Environmental contamination and cancer in fish. *Marine Environmental Research*, 28(1), 411-416. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(89\)90271-7](https://doi.org/10.1016/0141-1136(89)90271-7)
- Hou, R., Lin, L., Li, H., Liu, S., Xu, X., Xu, Y., Jin, X., Yuan, Y. et Wang, Z. (2021). Occurrence, bioaccumulation, fate, and risk assessment of novel brominated flame retardants (NBFRs) in aquatic environments — A critical review. *Water Research*, 198, 117168. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117168>
- Houde, M., Berryman, D., de Lafontaine, Y. et Verreault, J. (2014a). Novel brominated flame retardants and dechloranes in three fish species from the St. Lawrence River, Canada. *Science of The Total Environment*, 479-480, 48-56. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.105>
- Houde, M., Douville, M., Despatie, S.-P., De Silva, A. O. et Spencer, C. (2013a). Induction of gene responses in St. Lawrence River northern pike (*Esox lucius*) environmentally exposed to perfluorinated compounds. *Chemosphere*, 92(9), 1195-1200. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.099>
- Houde, M., Douville, M., Despatie, S.-P., De Silva, A. O. et Spencer, C. (2013b). Induction of gene responses in St. Lawrence River northern pike (*Esox lucius*) environmentally exposed to perfluorinated compounds. *Chemosphere*, 92(9), 1195-1200. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.099>
- Houde, M., Giraudo, M., Douville, M., Bougas, B., Couture, P., De Silva, A. O., Spencer, C., Lair, S., Verreault, J., Bernatchez, L. et Gagnon, C. (2014b). A multi-level biological approach to evaluate impacts of a major municipal effluent in wild St. Lawrence River yellow perch (*Perca flavescens*). *Science of The Total Environment*, 497-498, 307-318. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.059>
- Ings, J. S., Oakes, K. D., Vijayan, M. M. et Servos, M. R. (2012). Temporal changes in stress and tissue-specific metabolic responses to municipal wastewater effluent exposure in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 156(2), 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.04.002>
- Ivantsova, E., Lu, A. et Martyniuk, C. J. (2023). Occurrence and toxicity mechanisms of perfluorobutanoic acid (PFBA) and perfluorobutane sulfonic acid (PFBS) in fish. *Chemosphere*, 349, 140815. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140815>
- Javed, M. et Usmani, N. (2015). Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.09.021>
- Jenila, J. S., Issac, P. K., Lam, S. S., Oviya, J. C., Jones, S., Munusamy-Ramanujam, G., Chang, S. W., Ravindran, B., Mannacharaju, M., Ghotekar, S. et Khoo, K. S. (2023). Deleterious effect of gestagens from wastewater effluent on fish reproduction in aquatic environment: A review. *Environmental Research*, 236, 116810. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116810>

- Jentzsch, A. M., Bachmann, H., Fürst, P. et Biesalski, H. K. (1996). Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(2), 251-256. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02043-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02043-8)
- Jobling, S., Beresford, N., Nolan, M., Rodgers-Gray, T., Brighty, G. C., Sumpter, J. P. et Tyler, C. R. (2002). Altered Sexual Maturation and Gamete Production in Wild Roach (*Rutilus rutilus*) Living in Rivers That Receive Treated Sewage Effluents1. *Biology of Reproduction*, 66(2), 272-281. <https://doi.org/10.1095/biolreprod66.2.272>
- Kahatagahawatte, Y. B. P. et Hara-Yamamura, H. (2020). Review on Mixture Toxicity of Pharmaceuticals in Environmental Waters and Wastewater Effluents. Dans M. Kumar, F. Munoz-Arriola, H. Furumai et T. Chaminda (dir.), *Resilience, Response, and Risk in Water Systems : Shifting Management and Natural Forcings Paradigms* (p. 105-126). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4668-6_6
- Khan, E. A., Zhang, X., Hanna, E. M., Bartosova, Z., Yadetie, F., Jonassen, I., Goksøyr, A. et Arukwe, A. (2020). Quantitative transcriptomics, and lipidomics in evaluating ovarian developmental effects in Atlantic cod (*Gadus morhua*) caged at a capped marine waste disposal site. *Environmental Research*, 189, 109906. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109906>
- Kidd, K. A., Paterson, M. J., Rennie, M. D., Podemski, C. L., Findlay, D. L., Blanchfield, P. J. et Liber, K. (2014). Direct and indirect responses of a freshwater food web to a potent synthetic oestrogen. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1656), 20130578. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0578>
- Kim, M., Guerra, P., Alae, M. et Smyth, S. A. (2014). Occurrence and fate of four novel brominated flame retardants in wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(23), 13394-13404. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3262-4>
- Kortner, T. M., Björkhem, I., Krasnov, A., Timmerhaus, G. et Krogdahl, Å. (2014). Dietary cholesterol supplementation to a plant-based diet suppresses the complete pathway of cholesterol synthesis and induces bile acid production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, 111(12), 2089-2103. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000373>
- Kudo, N. (2015). Metabolism and Pharmacokinetics. Dans J. C. DeWitt (dir.), *Toxicological Effects of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances* (p. 151-175). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15518-0_6
- La Guardia, M. J., Mainor, T. M., Luellen, D. R., Harvey, E. et Hale, R. C. (2024). Twenty years later: PBDEs in fish from U.S. sites with historically extreme contamination. *Chemosphere*, 141126. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141126>
- Lafrance, M. et Robert, C. (2021). *Contamination de l'eau par les toxiques*. Plan d'action Saint-Laurent 2011-2026. https://publications.gc.ca/collections/collection_2021/eccc/En154-129-2021-fra.pdf
- Lai, W. W.-P., Lin, Y.-C., Tung, H.-H., Lo, S.-L. et Lin, A. Y.-C. (2016). Occurrence of pharmaceuticals and perfluorinated compounds and evaluation of the availability of reclaimed water in Kinmen. *Emerging Contaminants*, 2(3), 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.05.001>
- Laine, A. O., Momot, W. T. et Ryan, P. A. (1991). Accuracy of Using Scales and Cleithra for Aging Northern Pike from an Oligotrophic Ontario Lake. *North American Journal of Fisheries*

Management, 11(2), 220-225. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1991\)011<0220:AOUSAC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1991)011<0220:AOUSAC>2.3.CO;2)

- Law, R. J., Alaei, M., Allchin, C. R., Boon, J. P., Lebeuf, M., Lepom, P. et Stern, G. A. (2003). Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife. *Environment International*, 29(6), 757-770. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00110-7)
- Lazaro-Côté, A., Faught, E., Jackson, L. J. et Vijayan, M. M. (2021). Wild longnose dace downstream of wastewater treatment plants display an obese phenotype. *Environmental Pollution*, 285, 117363. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117363>
- Lee, J. J. et Schultz, I. R. (2010). Sex Differences in the Uptake and Disposition of Perfluorooctanoic Acid in Fathead Minnows after Oral Dosing. *Environmental Science & Technology*, 44(1), 491-496. <https://doi.org/10.1021/es901838y>
- Li, W.-L., McDaniel, T. V., de Solla, S. R., Bradley, L., Dove, A., McGoldrick, D., Helm, P. et Hung, H. (2023). Temporal Trends of Legacy and Current-Use Halogenated Flame Retardants in Lake Ontario in Relation to Atmospheric Loadings, Sources, and Environmental Fate. *Environmental Science & Technology*, 57(38), 14396-14406. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04876>
- Li, Y., Zhao, Y., Zhang, Y., Liang, X., Zhang, Y. et Gao, J. (2015). Growth Performance, Fatty Acid Composition, Peroxisome Proliferator-activated Receptors Gene Expressions, and Antioxidant Abilities of Blunt Snout Bream, *Megalobrama amblycephala*, Fingerlings Fed Different Dietary Oil Sources. *Journal of the World Aquaculture Society*, 46(4), 395-408. <https://doi.org/10.1111/jwas.12203>
- Liu, M., Yi, S., Yu, H., Zhang, T., Dong, F. et Zhu, L. (2023). Underlying Mechanisms for the Sex- and Chemical-Specific Hepatotoxicity of Perfluoroalkyl Phosphinic Acids in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Science & Technology*, 57(39), 14515-14525. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04964>
- Liu, Y., Chen, Z., Li, S., Ding, L., Wei, X., Han, S., Wang, P. et Sun, Y. (2022). Multi-omics profiling and biochemical assays reveal the acute toxicity of environmental related concentrations of Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the gill of crucian carp (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 307, 135814. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135814>
- Livingstone, D. R. (1998). *The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish* - *ScienceDirect*, (120(1)), 43-49. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10008-9](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10008-9)
- Lopes, D. G., Duarte, I. A., Antunes, M. et Fonseca, V. F. (2020). Effects of antidepressants in the reproduction of aquatic organisms: a meta-analysis. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 227, 105569. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105569>
- Madureira, T. V., Pinheiro, I., Malhão, F., Castro, L. F. C., Rocha, E. et Urbatzka, R. (2019). Silencing of PPAR α Bb mRNA in brown trout primary hepatocytes: effects on molecular and morphological targets under the influence of an estrogen and a PPAR α agonist. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 229, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2018.12.001>

- Mannaerts, G. P. et van Veldhoven, P. P. (1993). Metabolic pathways in mammalian peroxisomes. *Biochimie*, 75(3-4), 147-158.
- Marcogliese, D. J., Blaise, C., Cyr, D., de Lafontaine, Y., Fournier, M., Gagné, F., Gagnon, C. et Hudon, C. (2015a). Effects of a major municipal effluent on the St. Lawrence River: A case study. *AMBIO*, 44(4), 257-274. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0577-9>
- Marcogliese, D. J., Blaise, C., Cyr, D., de Lafontaine, Y., Fournier, M., Gagné, F., Gagnon, C. et Hudon, C. (2015b). Effects of a major municipal effluent on the St. Lawrence River: A case study. *Ambio*, 44(4), 257-274. <https://doi.org/10.1007/s13280-014-0577-9>
- Montagner, C. C., Sodr , F. F., Acayaba, R. D., Vidal, C., Campestrini, I., Locatelli, M. A., Pescara, I. C., Albuquerque, A. F., Umbuzeiro, G. A. et Jardim, W. F. (2019). Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from S o Paulo State, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30, 614-632. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>
- Munoz, G., Mercier, L., Duy, S. V., Liu, J., Sauvé, S. et Houde, M. (2022). Bioaccumulation and trophic magnification of emerging and legacy per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in a St. Lawrence River food web. *Environmental Pollution*, 309, 119739. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119739>
- Munoz, G., Vo Duy, S., Budzinski, H., Labadie, P., Liu, J. et Sauvé, S. (2015). Quantitative analysis of poly- and perfluoroalkyl compounds in water matrices using high resolution mass spectrometry: Optimization for a laser diode thermal desorption method. *Analytica Chimica Acta*, 881, 98-106. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.04.015>
- Nicolas, V., Andr oletti, P., Savary, S., Cl mencet, M.-C., Gondcaille, C., Mandard, S., Malki, M. C. et Latruffe, N. (2007). *Mieux comprendre les pathologies peroxysomales et identifier des pistes thérapeutiques :  tude de la β -oxydation peroxysomale des acides gras*, 2, 41-50.
- Nikel, K. E., McCallum, E. S., Mehdi, H., Du, S. N. N., Bowman, J. E., Midwood, J. D., Scott, G. R. et Balshine, S. (2021). Fish living near two wastewater treatment plants have unaltered thermal tolerance but show changes in organ and tissue traits. *Journal of Great Lakes Research*, 47(2), 522-533. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2021.01.017>
- Okamura, Y., Miyanishi, H., Kono, T., Sakai, M. et Hikima, J. (2021). Identification and expression of phospholipase A2 genes related to transcriptional control in the interleukin-17A/F1 pathway in the intestines of Japanese medaka *Oryzias latipes*. *Fish and Shellfish Immunology Reports*, 2, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100028>
- Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Sol , M., Porte, C. et Cajaraville, M. P. (2002). Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquatic Toxicology*, 58(1), 75-98. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00226-0)
- Pelletier, M. et Rondeau, M. (2013). *Les polybromodiphényléthers (PBDE) dans les matières en suspension et les sédiments du fleuve Saint-Laurent*. Plan d'action Saint-Laurent 2011-2026. https://publications.gc.ca/collections/collection_2014/ec/En14-67-2012-fra.pdf

- Pikuleva, I. A. (2006). Cholesterol-Metabolizing Cytochromes P450. *Drug Metabolism and Disposition*, 34(4), 513-520. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.008789>
- Pramanik, B. K. (2014). Occurrence of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the water environment and their removal in a water treatment process. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 5(2), 196-210. <https://doi.org/10.2166/wrd.2014.068>
- Rajotte, J. W. et Couture, P. (2002). Effects of environmental metal contamination on the condition, swimming performance, and tissue metabolic capacities of wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(8), 1296-1304. <https://doi.org/10.1139/f02-095>
- Rauschert, S., Uhl, O., Koletzko, B., Kirchberg, F., Mori, T. A., Huang, R.-C., Beilin, L. J., Hellmuth, C. et Oddy, W. H. (2016). Lipidomics Reveals Associations of Phospholipids With Obesity and Insulin Resistance in Young Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(3), 871-879. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3525>
- Reinling, J., Houde, M. et Verreault, J. (2017). Environmental exposure to a major urban wastewater effluent: Effects on the energy metabolism of northern pike. *Aquatic Toxicology*, 191, 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.08.003>
- Rocha-Gutierrez, B. et Lee, W.-Y. (2012). Determination and comparison of polybrominated diphenyl ethers in primary, secondary, and tertiary wastewater treatment plants. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 92(13), 1518-1531. <https://doi.org/10.1080/03067319.2011.585713>
- Rout, P. R., Zhang, T. C., Bhunia, P. et Surampalli, R. Y. (2021). Treatment technologies for emerging contaminants in wastewater treatment plants: A review. *Science of The Total Environment*, 753, 141990. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141990>
- Rowley, A. F., Knight, J., Lloyd-Evans, P., Holland, J. W. et Vickers, P. J. (1995). Eicosanoids and their role in immune modulation in fish—a brief overview. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(8), 549-567. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(95\)80041-7](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(95)80041-7)
- Salo, H. M., Hébert, N., Dautremepuits, C., Cejka, P., Cyr, D. G. et Fournier, M. (2007). Effects of Montreal municipal sewage effluents on immune responses of juvenile female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 84(4), 406-414. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.06.014>
- Sanchez, D., Houde, M., Douville, M., De Silva, A. O., Spencer, C. et Verreault, J. (2015). Transcriptional and cellular responses of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* to perfluoroalkyl phosphonic acids. *Aquatic Toxicology*, 160, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.12.002>
- Scott, B. F., Spencer, C. et Lopez, E. (2009). Perfluorinated Alkyl Acid Concentrations in Canadian Rivers and Creeks. *Water Quality Research Journal of Canada*, 44(3), 263-277.
- Sehonova, P., Plhalova, L., Blahova, J., Doubkova, V., Marsalek, P., Prokes, M., Tichy, F., Skladana, M., Fiorino, E., Mikula, P., Vecerek, V., Faggio, C. et Svobodova, Z. (2017). Effects of selected tricyclic antidepressants on early-life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 185, 1072-1080. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.092>

- Shi, G., Cui, Q., Wang, J., Guo, H., Pan, Y., Sheng, N., Guo, Y. et Dai, J. (2019). Chronic exposure to 6:2 chlorinated polyfluorinated ether sulfonate acid (F-53B) induced hepatotoxic effects in adult zebrafish and disrupted the PPAR signaling pathway in their offspring. *Environmental Pollution*, 249, 550-559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.032>
- Simond, A. E., Houde, M., Lesage, V. et Verreault, J. (2017). Temporal trends of PBDEs and emerging flame retardants in belugas from the St. Lawrence Estuary (Canada) and comparisons with minke whales and Canadian Arctic belugas. *Environmental Research*, 156, 494-504. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.058>
- Singh, I. (1996). *Mammalian Peroxisomes: Metabolism of Oxygen and Reactive Oxygen Species*, 804(1), 612-627.
- Smolders, R., De Boeck, G. et Blust, R. (2003). Changes in cellular energy budget as a measure of whole effluent toxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(4), 890-899.
- Sprague, M., Dick, J. R., Medina, A., Tocher, D. R., Bell, J. G. et Mourente, G. (2012). Lipid and fatty acid composition, and persistent organic pollutant levels in tissues of migrating Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, L.) broodstock. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 171, 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.021>
- Steeves, K. B. (2018). *Comparing the effects of two municipal wastewater effluents on reproductive output and endocrine status in the fathead minnow (*Pimephales promelas*)* [Thèse de doctorat, University of Saskatchewan]. <https://harvest.usask.ca/server/api/core/bitstreams/ab7c057f-5875-4cff-94ae-52ad3f052866/content>
- Stockholm Convention. (2019). *Listing of POPs in the Stockholm Convention*. <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509>
- Stockholm Convention. (2023). *Information on the 16 chemicals added to the Stockholm Convention*. BRSMes. <https://chm.pops.int/?tabid=2511>
- Stroski, K. M., Luong, K. H., Challis, J. K., Chaves-Barquero, L. G., Hanson, M. L. et Wong, C. S. (2020). Wastewater sources of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) and pharmaceuticals in four Canadian Arctic communities. *Science of The Total Environment*, 708, 134494. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134494>
- Sun, S., Ren, T., Li, X., Cao, X. et Gao, J. (2020). Polyunsaturated fatty acids synthesized by freshwater fish: A new insight to the roles of elov12 and elov15 in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 532(3), 414-419. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.08.074>
- Teixeira, V. et Costa, V. (2016). Unraveling the role of the Target of Rapamycin signaling in sphingolipid metabolism. *Progress in Lipid Research*, 61, 109-133. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2015.11.001>
- Tetreault, G. R., Bennett, C. J., Cheng, C., Servos, M. R. et McMaster, M. E. (2012). Reproductive and histopathological effects in wild fish inhabiting an effluent-dominated stream, Wascana Creek, SK, Canada. *Aquatic Toxicology*, 110-111, 149-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.01.004>

- Tocher, D. R. (2003a). Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Tocher, D. R. (2003b). Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Tocher, D. R., Bendiksen, E. Å., Campbell, P. J. et Bell, J. G. (2008). The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280(1), 21-34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.034>
- Tokarz, J., Möller, G., Hrabě de Angelis, M. et Adamski, J. (2015). Steroids in teleost fishes: A functional point of view. *Steroids*, 103, 123-144. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.06.011>
- Tongue, A. D. W., Reynolds, S. J., Fernie, K. J. et Harrad, S. (2019). Flame retardant concentrations and profiles in wild birds associated with landfill: A critical review. *Environmental Pollution*, 248, 646-658. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.103>
- Tran, N. H., Reinhard, M. et Gin, K. Y.-H. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. *Water Research*, 133, 182-207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>
- Uyama, T., Ichi, I., Kono, N., Inoue, A., Tsuboi, K., Jin, X.-H., Araki, N., Aoki, J., Arai, H. et Ueda, N. (2012). Regulation of Peroxisomal Lipid Metabolism by Catalytic Activity of Tumor Suppressor H-rev107. *Journal of Biological Chemistry*, 287(4), 2706-2718. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.267575>
- van Meer, G., Voelker, D. R. et Feigenson, G. W. (2008). Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(2), 112-124. <https://doi.org/10.1038/nrm2330>
- Varga, T., Czimmerer, Z. et Nagy, L. (2011). PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1812(8), 1007-1022. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.02.014>
- Ville de Montréal. (2022, 10 janvier). 2022-01-10 9 H 30 - Commission sur les finances et l'administration – Service de l'eau – budget et PDI. Ville de Montréal, Étude publique du budget 2022 et du PDI 2022-2031. <https://www.youtube.com/watch?v=K6Nw4LBCEzE>
- Ville de Montréal. (2023). Rapport de la vérificatrice générale de la Ville de Montréal 2022. https://ville.montreal.qc.ca/documents/Adi_Public/CM/CM_DA_ORDI_2023-05-15_13h00_Point_7.06_-_Rapport_de_la_verificatrice_generale_2022.pdf
- Wang, H., Liu, S., Zhang, C., Wan, Y. et Chang, H. (2020). Occurrence and mass balance of emerging brominated flame retardants in a municipal wastewater treatment plant. *Water Research*, 185, 116298. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116298>
- Wang, Q., Huang, J., Liu, S., Wang, C., Jin, Y., Lai, H. et Tu, W. (2022). Aberrant hepatic lipid metabolism associated with gut microbiota dysbiosis triggers hepatotoxicity of novel PFOS alternatives in adult zebrafish. *Environment International*, 166, 107351. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107351>

- Watkins, P. A. (2013). Fatty acids: Metabolism. Dans B. Caballero (dir.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)* (p. 220-230). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00103-3>
- Wen, W., Xia, X., Chen, X., Wang, H., Zhu, B., Li, H. et Li, Y. (2016). Bioconcentration of perfluoroalkyl substances by *Chironomus plumosus* larvae in water with different types of dissolved organic matters. *Environmental Pollution*, 213, 299-307. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.018>
- Wu, D.-L., Cheng, L., Rao, Q.-X., Wang, X.-L., Zhang, Q.-C., Yao, C.-X., Chen, S.-S., Liu, X., Song, W., Zhou, J.-X. et Song, W.-G. (2022). Toxic effects and transcriptional responses in zebrafish liver cells following perfluorooctanoic acid exposure. *Aquatic Toxicology*, 253, 106328. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106328>
- Xie, D., Chen, C., Dong, Y., You, C., Wang, S., Monroig, Ó., Tocher, D. R. et Li, Y. (2021). Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. *Progress in Lipid Research*, 82, 101095. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101095>
- Xu, G., Zhao, X., Zhao, S., Chen, C., Rogers, M. J., Ramaswamy, R. et He, J. (2021). Insights into the Occurrence, Fate, and Impacts of Halogenated Flame Retardants in Municipal Wastewater Treatment Plants. *Environmental Science & Technology*, 55(8), 4205-4226. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05681>
- Xu, H. E., Lambert, M. H., Montana, V. G., Parks, D. J., Blanchard, S. G., Brown, P. J., Sternbach, D. D., Lehmann, J. M., Wisely, G. B., Willson, T. M., Kliewer, S. A. et Milburn, M. V. (1999). Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Molecular Cell*, 3(3), 397-403. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80467-0](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80467-0)
- Zhang, W., Zhang, Y., Taniyasu, S., Yeung, L. W. Y., Lam, P. K. S., Wang, J., Li, X., Yamashita, N. et Dai, J. (2013). Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in municipal wastewater treatment plants in economically developed areas of China. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 176, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.019>
- Zhou, C., Pagano, J., McGoldrick, D. J., Chen, D., Crimmins, B. S., Hopke, P. K., Milligan, M. S., Murphy, E. W. et Holsen, T. M. (2019). Legacy Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) Trends in Top Predator Fish of the Laurentian Great Lakes (GL) from 1979 to 2016: Will Concentrations Continue to Decrease? *Environmental Science & Technology*, 53(12), 6650-6659. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00933>
- Zuiderveen, E. A. R., Slootweg, J. C. et de Boer, J. (2020). Novel brominated flame retardants - A review of their occurrence in indoor air, dust, consumer goods and food. *Chemosphere*, 255, 126816. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126816>