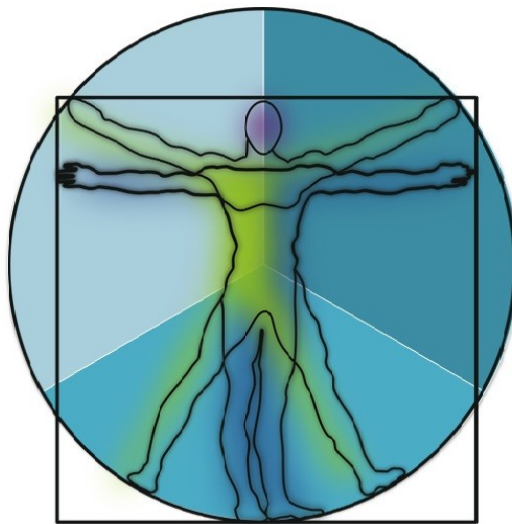


Diana Paula Silva Linhares

**MEDICAL GEOLOGY: AZOREAN VOLCANIC ISLANDS
AS A CASE-STUDY**



**UNIVERSIDADE DOS AÇORES
PONTA DELGADA
2016**

Diana Paula Silva Linhares

**MEDICAL GEOLOGY: AZOREAN VOLCANIC ISLANDS AS A
CASE-STUDY**

Dissertação apresentada na Universidade dos
Açores para a obtenção do grau de Doutor em
Biologia na especialidade de Biomedicina.

Orientadores: Professor Doutor Armindo dos
Santos Rodrigues

Professora Doutora Patrícia
Ventura Garcia

Professora Doutora Teresa de Jesus
Ferreira

Universidade dos Açores
Ponta Delgada
2016



**MEDICAL GEOLOGY: AZOREAN VOLCANIC ISLANDS AS A
CASE-STUDY**

Universidade dos Açores

Ponta Delgada

2016

This study was financially supported by BioAir-Biomonitoring air pollution: development of an integrated system (M2.1.2/F/00872011). Diana Linhares was supported by a doctoral grant from Fundo Regional da Ciência (Regional Government of the Azores) (PROEMPREGO Programme) (M3.1.2/F/019/2011).



“I never guess. It is a capital mistake to theorize before one has data.
Insensibly one begins to twist facts to suit theories, instead of theories to
suit facts.”

Sir Arthur Conan Doyle

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao
fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem
sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória,
nem derrota.”

Theodore Roosevelt

DEDICATÓRIA

Aos meus pais *João e Goreti*, obrigada pelo amor, alegria e atenção sem reservas.

Vocês fizeram de mim a pessoa que sou hoje, e eu só tenho motivos para agradecer. As vossas lições de esperança; sempre repetindo palavras essenciais como amor, fé, compreensão e alegria inculcaram em mim a confiança necessária para realizar os meus sonhos.

Para além da educação formal que vocês me ofereceram, e que sempre se esforçaram para que fosse a melhor, a formação humana foi sem dúvida o que de mais importante vocês fizeram por mim e eu, só posso retribuir tentando ser a melhor filha que pais como vocês merecem ter.

Eternamente grata por tudo o que me deram, desejo que esta etapa, que agora termino, possa de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que, constantemente, me oferecem. A vocês, dedico todo este trabalho e a concretização de um sonho.

Obrigado por tudo. Amo-vos muito!

TABLE OF CONTENTS

Agradecimentos	v
Abstract	vii
Resumo	ix
List of figures	xi
List of tables	xiii
List of publications included in the thesis	xv
Chapter I – General Overview	1
Medical Geology	3
Volcanic environments	6
Volcanic oceanic islands	7
Azores archipelago geologic settings	8
Volcanic emissions: exposure to natural gases and radioactivity	10
Carbon dioxide	11
Radon	12
Trace elements exposure: toxicity and deficiency	15
Fluoride	16
Iodine	18
Thesis outline	20
References	23
Chapter II – Air pollution by hydrothermal volcanism and human pulmonary function	35
Abstract	37
Introduction	38
Materials and Methods	40
Study population	40
Spirometry tests	43
Exposure assessment to volcanogenic air pollution by DDS	44
Statistical analysis	44
Results	45
General characteristics	45
Prevalence of restrictive and obstructive respiratory defects	48
Restrictive or obstructive respiratory defects	49
Discussion	52
Conclusions	56
References	58
Chapter III – DNA damage in oral epithelial cells of individuals chronically exposed to indoor radon (²²²Rn) in a hydrothermal area	65
Abstract	67
Introduction	68
Materials and Methods	71
Study areas	71
Assessment of exposure to indoor ²²² Rn	73
DNA damage in buccal epithelial cells	74
BMcyt assay	74
RAPD-PCR analysis	74

Statistical analysis	75
Results	76
Exposure to indoor ^{222}Rn	77
Effects of exposure on MNC and ONA	78
RAPDs profiles	79
Discussion	81
Conclusions	83
References	84
Chapter IV – Sensitivity of two biomarkers for biomonitoring exposure to fluoride in children and women: a study in a volcanic area	93
Abstract	95
Graphical Abstract	96
Introduction	97
Materials and Methods	99
Study areas	99
Study population	100
Fluoride assessment in drinking water and urine samples	101
Fluoride daily intake	102
Fluoride assessment in nails clippings	103
Statistical analysis	103
Results	104
Fluoride assessment in drinking water	107
Fluoride assessment in urine	108
Fluoride assessment in nail clippings	109
Discussion	110
Conclusions	114
References	116
Chapter V – Safety evaluation of fluoride content in tea infusions consumed in the Azores	121
Abstract	123
Graphical Abstract	125
Introduction	126
Materials and Methods	129
Water and tea samples	129
Preparation of tea infusions	129
Fluoride quantification in drinking water and tea infusions	130
Fluoride daily intake	130
Statistical analysis	131
Results	131
Drinking water characterization	131
Fluoride assessment in black tea	132
Fluoride assessment in green tea	134
Daily intake	135
Discussion	136
Conclusions	139
References	140
Chapter VI – Iodine environmental availability and human intake in	147

oceanic islands: Azores as a case-study	
Abstract	149
Graphical Abstract	150
Introduction	151
Materials and Methods	153
Study areas	153
Iodine determination in soil and grass	155
Iodine determination in water	156
Study populations and assessment of iodine intake	157
Statistical analysis	159
Results	160
Study population characterization	160
Iodine concentrations in soil, grass pasture and water	161
Urinary iodine concentration	162
Iodine deficiency and iodine environmental availability	164
Discussion	165
Conclusions	172
References	173
Chapter VII – Final considerations and future studies	181
Final Considerations	183
Future studies	187
References	189
Appendix	
I- Questionnaire for the assessment of medical history data for respiratory symptoms and cellular damage	A-2
II – GOLD staging criteria to COPD classification	A-4
III- Questionnaire for the assessment of building characteristics	A-6
IV- Table with the main results of the summer and winter indoor ²²² Rn campaign	A-9
V- Questionnaire for the assessment of fluoride exposure	A-11
VI- Questionnaire for the assessment of iodine intake	A-13

AGRADECIMENTOS

Concluir um projeto de doutoramento implica uma longa jornada, em grande medida individual e solitária, difícil de levar a bom porto sem o apoio de uma rede de pessoas e instituições a quem quero deixar aqui os meus sinceros agradecimentos.

Em primeiro lugar ao *Doutor Armando dos Santos Rodrigues*, pela confiança que depositou em mim e pelo sentido de responsabilidade que me incutiu em todas as fases do projeto. O meu mais profundo agradecimento pela sua orientação e apoio incondicionais que muito elevaram os meus conhecimentos científicos e, sem dúvida, muito estimularam o meu desejo de querer, sempre, saber mais e a vontade constante de querer fazer melhor.

À *Doutora Patrícia Garcia*, minha coorientadora, pela competência científica e orientação dada, e que me ensinou com prazer e dedicação parte do que sei, bem como pela disponibilidade e amizade então demonstradas.

À *Doutora Teresa Ferreira*, o meu sincero agradecimento pela coorientação neste projeto. Muito obrigada pelo profissionalismo, pela disponibilidade que sempre revelou para comigo.

Ao Instituto de Vulcanologia e Avaliação de Riscos (IVAR), em especial à *Doutora Gabriela Queiroz*, por me ter proporcionado as condições necessárias para a elaboração da minha Tese e por permitir a minha integração num centro de investigação de tão elevada qualidade e exigência.

Ao Departamento de Biologia, especialmente ao *Prof. Doutor António dos Santos Machado Pires Martins*, pela constante disponibilidade.

Às *Câmaras Municipais de Ponta Delgada e da Povoação e, Juntas de Freguesia* por terem acreditado na utilidade pública do projeto, facilitando o acesso às populações e a transmissão de informação.

À *Unidade de Saúde de Ilha de São Miguel*, por ter permitido a participação dos médicos do centro de saúde da Povoação no aconselhamento e acompanhamento das crianças e adultos que participaram no projeto.

Às *Escolas de Ribeira Quente, Furnas, Porto Formoso e Sete Cidades* em São Miguel e as *Escolas de Vila do Porto e Aeroporto* em Santa Maria, que foram os principais interlocutores com os pais e as crianças que participaram no projeto.

Aos colegas e amigos pela paciência e pela presença em especial, à *Carolina Parelho* amiga e companheira especialmente durante os meus “acessos de loucura”, agradeço, de forma especial, a ajuda, o apoio e a preocupação, nos momentos de maior aflição, obrigada por seres minha amiga.

Expresso também a minha gratidão e solidariedade a *Todos os Participantes* que, embora no anonimato, prestaram uma contribuição fundamental para que este estudo fosse possível e para o avanço da investigação científica nesta área do conhecimento.

ABSTRACT

Medical Geology is defined as the science dealing with the relationships between geological materials and geologic processes and their impacts on health problems in man and animals. This science interdisciplinary approach has linked water-borne diseases, emerging infectious diseases, health effects of trace elements and volcanic emissions to human diseases. The aim of this thesis was to apply a Medical Geology integrated approach in order to study some specific characteristics of the Azores archipelago. The core was placed on describing the geochemical profile of some natural occurring compounds and their effects in human health; this allowed the development of risk assessment studies.

The first part of the study consisted on the assessment of the background concentrations of carbon dioxide, radon, fluoride and iodine in the air, water, soil and vegetation; this allowed to distinct areas with high concentrations of these elements from the areas with low concentrations, and to model the deposition/uptake of these substances in the environment. The second part of the study consisted in the determination of the conditions of exposure that promote deteriorating health conditions. The chronic exposure to volcanogenic carbon dioxide and radon in hydrothermal areas was associated with the development of respiratory defects and with the occurrence of DNA damage in human oral epithelial cells, respectively. As for the trace elements, it was observed that groundwater naturally enriched in fluoride contribute positively for fluoride intake, reaching, in some cases, values above the recommended guidelines; this issue reaches higher proportions if we consider that water consumption is not the only exposure pathway: fluoride is also present in food and beverages (e.g. tea), and as an additive to various dental products. Considering iodine, the intake of this element is insufficient in Azorean oceanic islands due to the islands'

geomorphology and climate that can difficult iodine environmental availability and bioavailability.

This thesis reinforces the need to identify harmful geologic agents and to determine the conditions of exposure that promote deteriorating health conditions. This knowledge can be very useful since it will assist and guide authorities in the implementation and development of strategies, programs and approaches necessary to eliminate or minimize health risks, improving the well-being of the communities.

RESUMO

A Geologia Médica é definida como a ciência que lida com as relações entre os materiais e processos geológicos e, os seus impactos na saúde das populações humanas e animais. A interdisciplinaridade desta ciência já permitiu associar as doenças transmitidas pela água, as doenças infecciosas emergentes, a presença ou a falta de determinados elementos-traço e as emissões vulcânicas com o desenvolvimento de doenças. O objetivo desta tese foi desenvolver uma abordagem integrada de Geologia Médica, a fim de estudar algumas das características específicas do Arquipélago dos Açores. O foco foi colocado em descrever o perfil geoquímico de alguns compostos bem como, o seu efeito na saúde, permitindo o desenvolvimento de estudos de avaliação de risco.

A primeira abordagem do estudo consistiu na avaliação das concentrações de dióxido de carbono, radão, flúor e iodo em matrizes como o ar, a água, o solo e a vegetação; isto permitiu distinguir as áreas com altas concentrações destes elementos das áreas com baixas concentrações e, modelar a deposição / absorção destes elementos no meio ambiente. A segunda parte do estudo consistiu na determinação das condições de exposição que promovem a deterioração das condições de saúde. A exposição crónica ao dióxido de carbono e radão de origem vulcânica, em zonas hidrotermais, foi associada com o desenvolvimento de problemas do foro respiratório e com a ocorrência de danos no ADN em células epiteliais orais humanas, respetivamente. Relativamente aos elementos-traço, observou-se que as águas subterrâneas são naturalmente ricas em fluoreto e que o seu consumo contribui positivamente para os valores de ingestão de flúor acima das diretrizes recomendadas; este problema atinge maiores proporções se considerarmos que o consumo de água não é a única via de exposição: o flúor também está presente em alimentos e bebidas (e.g. chá), e é um aditivo para vários produtos

odontológicos. Considerando o iodo, verificou-se que o aporte deste elemento é insuficiente nas populações humanas dos Açores devido à geomorfologia das suas ilhas e ao seu clima, que podem influenciar a disponibilidade e biodisponibilidade ambiental deste elemento.

Esta tese reforça a necessidade de identificar agentes geológicos prejudiciais e de determinar as condições de exposição que promovem a deterioração das condições de saúde. Este conhecimento poderá ser de grande utilidade para ajudar e orientar as autoridades no desenvolvimento e implementação de estratégias, programas e abordagens necessárias para eliminar ou minimizar os riscos para a saúde e contribuir para a melhoria do bem-estar das populações.

LIST OF FIGURES

Chapter I – General Overview

- Figure 1-** A) Main morphotectonic features of the Azores region; B) Azores geographical groups.....9

Chapter II - Air pollution by hydrothermal volcanism and human pulmonary function

- Figure 2-** (A) Location map of the Azores archipelago and (B) São Miguel Island. The places represented in the map correspond to the two studied areas (Ponta Delgada and Ribeira Quente).....42
- Figure 3-** Map of soil diffuse degassing in Ribeira Quente village according to Viveiros *et al.* 2010. The dots represent the participating individuals according to spirometry diagnosis.....47
- Figure 4-** Proportion (%) of individuals with obstructive and restrictive airway diseases in study (Ribeira Quente) and reference (Ponta Delgada) groups.....48

Chapter III - DNA damage in oral epithelial cells of individuals chronically exposed to indoor radon (^{222}Rn) in a hydrothermal area

- Figure 5-** a) Main morphotectonic features of the Azores region; the shaded area in both the inset and main figure TR (s.l.) represents the sheared western segment of the Eurasia-Nubia plate boundary, and TR (s.s.) corresponds to São Miguel-Graciosa alignment (adapted from Carmo *et al.*, 2013). Tectonic setting of the Azores archipelago (adapted from Hipólito *et al.* 2010).....72
- Figure 6-** Box plots diagrams showing the frequency distribution of cells with micronuclei (a) and of cells with other nuclear anomalies (b) per 1000 buccal epithelial cells in the reference (Ponta Delgada city inhabitants; non-hydrothermal area) and study (Ribeira Quente village inhabitants; hydrothermal area).....78
- Figure 7-** Distribution of the RAPD bands in the study and reference groups for primer F12.....80

Chapter IV- Sensitivity of two biomarkers for biomonitoring exposure to fluoride in children and women: a study in a volcanic area

Figure 8- (A) Location of the Azores archipelago; (B) São Miguel Island with identification of the three volcanos (Sete Cidade, Fogo and Furnas).....100

Figure 9- Box plots diagrams showing the mean fluoride concentration in each study group (A- mean fluoride concentration in urine in children; B- mean fluoride concentration in urine in adults; C- mean fluoride concentration in nail clippings in children; D- mean fluoride concentration in nail clippings in adults.....108

Chapter V- Safety evaluation of fluoride content in tea infusions consumed in the Azores – a volcanic region with water springs naturally enriched in fluoride

Figure 10- Association between fluoride concentration in the infusion and brewing time is represented in A (black tea) and in B (green tea).....134

Chapter 6- Iodine environmental availability and human intake in oceanic islands: Azores as a case-study

Figure 11- (A) Average total annual precipitation in the archipelago of the Azores (1971-2000) (adapted from Climate Atlas of the archipelagos of Canary Islands, Madeira and the Azores, 2012), highlighting the precipitation distribution in the islands of São Miguel (A1) and Santa Maria (A2).....154

Figure 12- Sampling sites of soil and grass pasture (red dots) in the islands of São Miguel (B) and Santa Maria (C). GU sampled geological units.....156

Figure 13- Box plot diagrams showing the distribution of iodine in soils (A), grass pasture (B), tap water (C) and urinary iodine (D) from the reference Island/group (Santa Maria) and the study Island/group (São Miguel).....162

Figure 14- Percentage of schoolchildren according to iodine intake status (severe deficiency intake to excess intake) in reference (Santa Maria) and study groups (São Miguel).....163

LIST OF TABLES

Chapter II - Air pollution by hydrothermal volcanism and human pulmonary function

Table 1- Description of the study populations (study and reference groups) [mean \pm SE for continuous variables or <i>n</i> (%) for categorical variables]	46
Table 2- Adjusted association between characteristics of study participants, exposure to volcanogenic soil diffuse degassing (DDS) and restrictive lung defects.....	49
Table 3- Adjusted association between characteristics of study participants, exposure to volcanogenic soil diffuse degassing and obstructive lung defects.....	50
Table 4- Adjusted association between characteristics of study participants, exposure to volcanogenic soil diffuse degassing and COPD exacerbation.....	51

Chapter III - DNA damage in oral epithelial cells of individuals chronically exposed to indoor radon (²²²Rn) in a hydrothermal area

Table 5- Description of the study population (Ponta Delgada - reference group and Ribeira Quente - study group) [mean \pm SE for continuous variables or <i>n</i> (%) for categorical variables].....	76
Table 6- Adjusted association between the characteristics of study participants and exposure to indoor radon with the frequency of micronucleated cells.....	79

Chapter IV- Sensitivity of two biomarkers for biomonitoring exposure to fluoride in children and women: a study in a volcanic area

Table 7- Description of the study populations [RQ (Ribeira Quente), PF (Porto Formoso), FR (Furnas) and SC (Sete Cidades)] [mean \pm SE for continuous variables or <i>n</i> (%) for categorical variables].....	105/106
Table 8- Drinking water physicochemical properties (mean \pm SE): RQ (Ribeira Quente), PF (Porto Formoso), FR (Furnas) and SC (Sete Cidades).....	107
Table 9- Association between daily intake (mgF), urine (μ gF/mg creatinine), nails (μ g/g) and dental fluorosis for both the children and the mothers from all the studied sites.....	109

Chapter V- Safety evaluation of fluoride content in tea infusions consumed in the Azores – a volcanic region with water springs naturally enriched in fluoride

Table 10- Drinking water fluoride content and pH (mean \pm SE) and, fluoride content (mean \pm SE) in the infusions prepared with the studied brands and with the water from the three studied areas.....132

Table 11- Association between fluoride concentration in tea infusions (black tea and green tea) and pH prepared with drinking water from all the studied areas (PF- Porto Formoso; PDL- Ponta Delgada; SC- Sete Cidades).....133

Table 12- Fluoride concentration in infusions at 3 minutes of brewing time and daily intake for each brand prepared with water from the three different areas.....135

Chapter 6- Iodine environmental availability and human intake in oceanic islands: Azores as a case-study

Table 13- Description of the study populations (mean \pm SE for continuous variables, median for UIC or *n* (%) for categorical variables.....160

Table 14- Soil physicochemical properties, water and grass pasture iodine content in the GU (mean \pm SD).....161

Table 15- Association between characteristics of study participants, exposure to low iodine environmental availability and UIC.....164

LIST OF PUBLICATIONS

The present work contains techniques and/or data also presented in the following scientific papers:

Linhares D., Garcia P., Amaral L., Ferreira T., Cury J., Vieira W., Rodrigues A. 2016. Sensitivity of two biomarkers for biomonitoring exposure to fluoride in children and women: A study in a volcanic area. *Chemosphere*, 155: 614-620.

Linhares D., Garcia P., Almada A., Ferreira T., Queiroz G., Cruz J. V., Rodrigues A.S., 2015. Iodine environmental bioavailability and human intake in oceanic islands: Azores as a case study. *Science of the Total Environment*, 538:531-538.

Linhares D., Garcia P.V., Viveiros F., Ferreira T., Rodrigues A. 2015. Air Pollution by Hydrothermal Volcanism and Human Pulmonary Function. *Biomed Research International*. ID326794, 9 pages.

Under review:

Linhares D., Garcia P.V., Silva C., Barroso J., Kazachkova N., Pereira R., Lima M., Camarinho R., Ferreira T., Rodrigues A. DNA damage in oral epithelial cells of individuals chronically exposed to indoor radon (^{222}Rn) in a hydrothermal area. *Under review in: Environmental Geochemistry and Health*.

Submitted:

Linhares D., Gracia P.V., Amaral L., Ferreira T., Rodrigues A. Safety evaluation of fluoride content in tea infusions consumed in the Azores – a volcanic region with water springs naturally enriched in fluoride. (*LWT - Food Science & Technology*; IF-2.711).