

Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin B  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. med. Christian Templin)  
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

## **Geschlechtsspezifische Assoziation der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 in der Allgemeinbevölkerung**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2024

vorgelegt von: Magdalena Ellen Haid  
geb. am: 09.12.1995  
in: Stuttgart



Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich

1. Gutachter: Herr PD Dr. Dr. Marin Bahls

2. Gutachterin: Frau Prof. Dr. Tanja Zeller

Ort, Raum: Klinik für Innere Medizin B, Raum 6.0.8

Tag der Disputation: 21.02.2025

# Inhalt

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>6</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>6</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>7</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>9</b>
1.1 Kardiorespiratorische Fitness.....	9
1.2 Galektin-3 .....	9
1.3 Galektin-3 und Fibrose .....	10
1.4 Fragestellung .....	11
<b>2. Methoden .....</b>	<b>12</b>
2.1 Studiendesign.....	12
2.2 Interview, medizinische und Laboruntersuchung .....	13
2.3 Belastungstest .....	15
2.4 Gasaustausch-Variablen.....	15
2.5 Statistik .....	15
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>18</b>
3.1 Deskriptive Statistik.....	18
3.2 Assoziation zwischen der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 .....	21
3.3 Einfluss der Menopause auf die Assoziation zwischen der kardio-respiratorischen Fitness mit Galektin-3 .....	22
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>23</b>
<b>5. Schlussfolgerung .....</b>	<b>26</b>
<b>6. Anhang.....</b>	<b>27</b>
6.1 Quellenverzeichnis.....	27
6.2 Eidesstattliche Erklärung .....	31
6.3 Danksagung.....	32
6.4 Publikation .....	33

## Abkürzungsverzeichnis

BIA	Bioelektrische Impedanz-Analyse
BMI	Körpermasseindex (body-mass-index)
CPET	Spiroergometrie (cardiopulmonary exercise testing)
eGFR	Glomeruläre Filtrationsrate (estimated glomerular filtration rate)
EKG	Elektrokardiogramm (electrocardiogram)
Gal-3	Galektin-3
HBA1c	Glykosyliertes Hämoglobin (glycated hemoglobin)
HDLC	Lipoprotein hoher Dichte (high-density lipoprotein cholesterol)
HF	Maximale Herzfrequenz
KFR	Kardiorespiratorische Fitness
LDLC	Lipoprotein niederer Dichte (low-density lipoprotein cholesterol)
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (left ventricular ejection fraction)
SHIP	Study of Health in Pomerania
SHIP-TREND-0	Basisstichprobe II der Study of Health in Pomerania
VCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidabgabe
VE	Tidalvolumen
VO <sub>2</sub> max@AT	Maximale Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle (anaerobic threshold)
VO <sub>2</sub> max	Maximale Sauerstoffaufnahme
Watt max	Maximale Leistung
WHO	Weltgesundheitsorganisation
95 %-KI	95 %-Konfidenzintervall

## **Tabellenverzeichnis**

*Haid ME, Zylla S, Paulista Markus MR et al. Sex-specific associations of cardiorespiratory fitness and galectin-3 in the general population. ESC Hear Fail 2022:4240–9.*

### Tabelle 1

Deskriptive Charakteristika der männlichen Stichprobe nach alters- und geschlechtsspezifischen VO<sub>2</sub>max Quartilen

### Tabelle 2

Deskriptive Charakteristika der weiblichen Stichprobe nach alters- und geschlechtsspezifischen VO<sub>2</sub>max Quartilen

### Tabelle 3

Assoziation der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 bei Männern und Frauen

### Tabelle 4

Assoziation der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 in der weiblichen Stichprobe prä- und postmenopausal

## **Abbildungsverzeichnis**

*Haid ME, Zylla S, Paulista Markus MR et al. Sex-specific associations of cardiorespiratory fitness and galectin-3 in the general population. ESC Hear Fail 2022:4240–9.*

### Abbildung 1

Biologische Funktionen von Galektin-3

### Abbildung 2

Studiendesign: Flowchart der Ausschlusskriterien

### Abbildung 3

Gerichteter azyklischer Graph zur Darstellung des potentiellen Zusammenhangs zwischen der kardiorespiratorischen Fitness und Galektin-3.

## Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen gelten als die häufigste Todesursache weltweit. Eine höhere kardiorespiratorischer Fitness (KRF) ist mit einem geringeren Risiko für Herz-Kreislauf-Krankheiten und einer reduzierten Gesamtmortalität verbunden. In jüngster Zeit wird die Rolle von Galektin-3 (Gal-3) als prognostischer Biomarker bei Patienten mit bereits bestehender Herzinsuffizienz untersucht. In dieser Dissertation wurde analysiert, ob eine hohe KRF mit ihren kardioprotektiven Eigenschaften auch bei Patienten ohne manifeste Erkrankung mit Gal-3 assoziiert ist.

Galektine sind eine Gruppe von Proteinen, die eine Kohlenhydraterkennungsdomäne enthalten. Diese Domäne ermöglicht Gal-3 die Bindung von  $\beta$ -Galaktosid-Zuckerstrukturen und hiermit die Regulierung der Aktivität einer Vielzahl von Glykoproteinen. Auf diese Weise übt Gal-3 multiple verschiedene Zellreaktionen aus. So kann Gal-3 beispielsweise die Aktivität von Fibroblasten und Makrophagen modulieren und wird mit mehreren organspezifischen Erkrankungen, die durch Fibrose vermittelt werden, in Verbindung gebracht.

Ziel dieses Projektes ist es, den Zusammenhang zwischen der KRF und Gal-3 in einer großen Stichprobe, der bevölkerungsbasierten Study of Health in Pomerania, zu untersuchen. Dabei wurden Probanden und Probandinnen mit einer Vielzahl manifester Krankheiten wie beispielsweise Herz- oder Niereninsuffizienz, chronischer Lungenerkrankung oder Krebserkrankung, ausgeschlossen. Um den Einfluss des Geschlechts genauer zu untersuchen, wurde im Anschluss an die geschlechtsspezifischen Analysen noch eine Stratifizierung nach dem Menopausen-Status in der weiblichen Population durchgeführt. Insgesamt wurden 1515 Teilnehmer\*innen mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren, 48 % Männer, in die Analyse einbezogen. Es wurden geschlechtsspezifische lineare Regressionsmodelle verwendet, um KRF-Parameter und Serum-Gal-3 in Beziehung zu setzen. Alle Modelle wurden für das Alter, den aktuellen Raucherstatus und die eGFR angepasst.

Bei Männern war eine um 1 l/min höhere maximale Sauerstoffaufnahme ( $\beta$  -0,50 ng/mL) invers mit Gal-3 assoziiert. Ähnlich war eine um 1 ml/min/kg höhere  $VO_2$ peak, die an das Körpergewicht ( $\beta$  -0,0286 ng/mL) oder die Magermasse ( $\beta$  -0,0022 ng/mL) angepasst war, bei Männern mit weniger Gal-3 assoziiert. Eine 1 Watt höhere Leistung ( $\beta$  -0,0078 ng/mL), oder die für das Gewicht adjustierte Leistung ( $\beta$  -0,3983 ng/mL) war mit niedrigerem Gal-3 assoziiert. Wir fanden keine signifikante Assoziation der  $VO_2$ peak, oder der  $VO_2$ peak adjustiert für die Magermasse, mit Gal-3 bei den Frauen. Im Gegensatz dazu war eine um 1 ml/min/kg höhere für das Körpergewicht adjustierte  $VO_2$ peak signifikant mit einem um -0,0064 ng/mL

geringeren Gal-3 assoziiert. Hinsichtlich der maximalen Leistung war eine Steigerung um 1 Watt mit einem um  $-0,0049$  ng/mL geringeren Gal-3 assoziiert. Wenn die Leistung an das Körpergewicht angepasst wurde, war ein Anstieg um 1 Watt mit einem um  $0,8718$  ng/mL reduzierten Gal-3 assoziiert.

Der spezifische biologische Mechanismus, der unseren Beobachtungen zugrunde liegt, ist bisher unklar. Unsere Ergebnisse könnten zu der Annahme führen, dass Geschlechtshormone eine Rolle bei den geschlechtsspezifischen Assoziationen von Gal-3 und dem kardiovaskulären System spielen. Wir konnten jedoch keine Hinweise darauf finden, dass diese Beobachtung auf den Status der Menopause zurückzuführen war, da wir keine Unterschiede zwischen prä- und postmenopausalen Frauen fanden.

Unsere Ergebnisse könnten für die präventive Kardiologie von Interesse sein. Insbesondere ist bekannt, dass körperliches Training sowohl die  $VO_2$ max verbessert als auch Fibrose reduziert. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass niedrigere Gal-3-Konzentrationen möglicherweise einen potenziellen Mechanismus darstellen, der diese Beobachtung erklären könnte. Gal-3 könnte somit das Potential haben, zukünftig als prognostischer geschlechtsspezifischer kardiovaskulärer Risikofaktor genutzt zu werden. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um mögliche geschlechtsspezifische Assoziationen und deren zugrunde liegenden Mechanismen zwischen der KRF und Gal-3 zu bestätigen und vollständig zu verstehen. Zukünftig könnten Gal-3-Inhibitoren eine Rolle bei der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen spielen.

# **1. Einleitung**

## **1.1 Kardiorespiratorische Fitness**

Kardiovaskuläre Erkrankungen gelten als die häufigste Todesursache weltweit [1,2]. Ein höheres Maß an kardiorespiratorischer Fitness (KRF) ist mit einem geringeren Risiko für Herz-Kreislauf-Krankheiten und einer reduzierten Gesamtmortalität verbunden [3,4,8]. Definiert wird die KRF als die Fähigkeit des respiratorischen und kardiovaskulären Systems zur Versorgung der Muskulatur mit ausreichend Sauerstoff, um eine aerobe Energiegewinnung zu ermöglichen [5]. Meist wird sie als relative maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_2\text{max}$ ) angegeben, die anhand von Laufband- oder Fahrradbelastungstest ermittelt werden kann. Beeinflusst wird die KRF durch eine Vielzahl von Komponenten wie genetischen Faktoren, dem Geschlecht und der Leistungsfähigkeit des Herz-Kreislauf-Systems. Hinzu kommen des Weiteren Faktoren, die durch das Verhalten beeinflusst werden wie der Rauchstatus, das Gewicht oder die körperliche Aktivität [6,7].

Von der KRF abzugrenzen ist die körperliche Aktivität, welche Handlungen umfasst, die aus einem gesteigerten Energieverbrauch durch statische und dynamische Muskelkontraktionen resultieren [7,9,10].

## **1.2 Galektin-3**

Galektine sind eine Gruppe von Proteinen, die eine Kohlenhydraterkennungsdomäne (carbohydrate recognition domane, CRD) enthalten. Diese Domäne ermöglicht Galektin-3 (Gal-3) die Bindung von  $\beta$ -Galaktosid-Zuckerstrukturen und hiermit die Regulierung der Aktivität einer Vielzahl von Glykoproteinen [11]. Auf diese Weise übt Gal-3 multiple verschiedene Zellreaktionen aus [12]. Exprimiert wird Gal-3 in vielen Zellpopulationen sowohl im Nukleus, als auch im Zytoplasma oder auf der Zelloberfläche [13]. In den extrazellulären Raum wird es vor allem von Makrophagen sezerniert, wo eine Interaktion mit Zelloberflächen-Rezeptoren stattfindet wodurch transmembrane Signalwege induziert werden können [14]. Gal-3 kann somit die Zellproliferation, Zelladhäsion und Zellmigration, die Apoptose, Angiogenese und insbesondere die organspezifische Fibrose beeinflussen [15].



Abb.1 Biologische Funktionen von Galektin-3

### 1.3 Galektin-3 und Fibrose

Gal-3 kann die Aktivität von Fibroblasten und Makrophagen modulieren und wird mit mehreren organspezifischen Erkrankungen, die durch Fibrose vermittelt werden, in Verbindung gebracht. In jüngster Zeit wird die Rolle von Gal-3 als prognostischer Biomarker für Fibrose und Herzinsuffizienz untersucht [16]. Höhere Gal-3-Spiegel sind des Weiteren mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität verbunden [17–19]. Insbesondere im Hinblick auf die Herzinsuffizienz waren höhere Plasma Gal-3-Spiegel mit einer größeren Mortalität bei akuter und [20] kompensierter Herzinsuffizienz verbunden [21]. Demnach könnte Gal-3 als früher Biomarker für verschiedene Erkrankungen dienen, um frühe Präventionsmaßnahmen zu ermöglichen. Der therapeutische Einsatz von Gal-3-Inhibitoren zeigte in der Vergangenheit Potenzial zur Vorbeugung von kardiovaskulären Erkrankungen [22–24].

Diese Gal-3-Inhibitoren verhindern das myokardiale Remodelling, indem sie den fibrotischen Umbau des Myokards hemmen und damit eine linksventrikuläre Dysfunktion bis hin zur Herzinsuffizienz minimieren [25].

In der allgemeinen Bevölkerung konnten bei Frauen höhere Gal-3-Werte im Vergleich zu Männern gefunden werden [26,27]. Es wurde vermutet, dass potentielle geschlechtsspezifische Auswirkungen von Gal-3 durch einen höheren Anteil der Körperfettmasse bedingt sind. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz konnten jedoch keine erhöhten Gal-3 Plasmaspiegel bei Frauen gefunden werden [28]. Ob das Geschlecht die Assoziation von Gal-3 mit kardiovaskulären Endpunkten modifiziert war bisher noch nicht einzuschätzen.

## **1.4 Fragestellung**

Ob eine hohe KRF mit ihren kardioprotektiven Eigenschaften mit Gal-3 zusammenhängt und, ob das Geschlecht diese Assoziation modifiziert, ist bisher unklar. Ziel dieser Studie war es, den Zusammenhang zwischen der KRF und Gal-3 in einer großen Stichprobe, der bevölkerungsbasierten Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0), zu untersuchen. Dabei wurden Probanden und Probandinnen mit einer Vielzahl manifester Krankheiten ausgeschlossen. Um den Einfluss des Geschlechts genauer zu untersuchen, wurde im Anschluss an die geschlechtsspezifischen Analysen noch eine Stratifizierung nach dem Menopausen-Status in der weiblichen Population durchgeführt.

## 2. Methoden

### 2.1 Studiendesign

Wir verwendeten Daten der bevölkerungsbasierten Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0) aus Nordostdeutschland. Über die Rekrutierungsstrategie und das Studiendesign wird an anderer Stelle berichtet [29]. Kurz zusammengefasst wurde SHIP-TREND-0 zwischen 2008 und 2012 durchgeführt. Eine geschichtete Zufallsstichprobe von 8826 Personen im Alter von 20-79 Jahren wurde aus Bevölkerungsregistern gezogen. Insgesamt nahmen 4420 Personen an der Basisuntersuchung teil. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Greifswald genehmigt und steht im Einklang mit der Deklaration von Helsinki. Alle Studienteilnehmer\*innen erklärten vor der Teilnahme schriftlich ihr Einverständnis.

Zunächst wurden alle Probanden und Probandinnen eingeschlossen, die sich für die Teilnahme an einem kardiopulmonalen Belastungstest (CPET) entschieden. Ausgeschlossen wurden Personen mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) < 40 % (n= 18), einem vorausgegangenem Myokardinfarkt (n= 31), Vorhofflimmern (n= 86), einer chronischen Lungenerkrankung (n= 183), einer schweren Nierenerkrankung (geschätzte glomeruläre Filtrationsrate [eGFR] < 30 ml/min/mm<sup>2</sup>) (n= 36), einer Krebserkrankung in der Vorgeschichte (n= 111) und extremen Werten für Gal-3 (< 1. Perzentil; > 99. Perzentil) (n= 21) (Abbildung 2).

Insgesamt wurden 1515 Teilnehmer\*innen mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren (IQR: 39 - 59 Jahre, 48 % Männer) in die Analyse einbezogen.

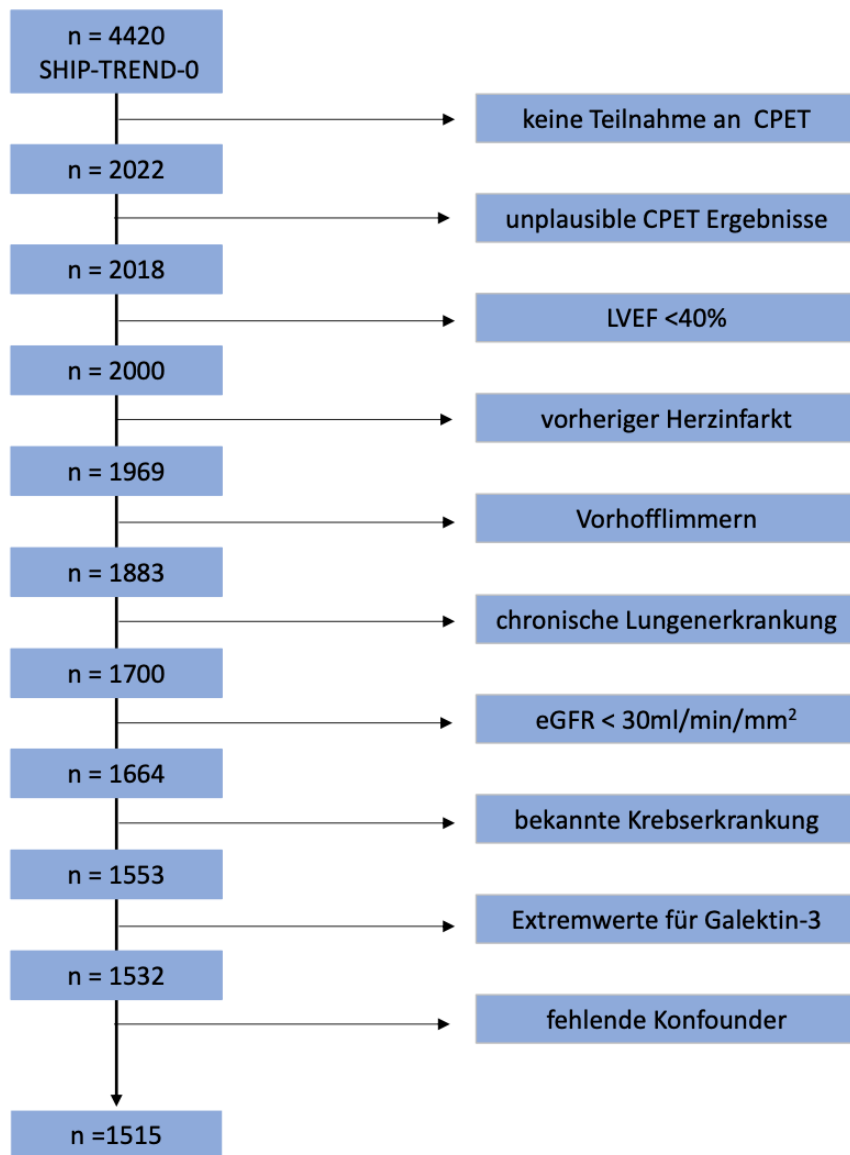


Abb.2 Studiendesign: Flowchart der Ausschlusskriterien

## 2.2 Interview, medizinische und Laboruntersuchung

Die Daten zum Alter, dem Geschlecht und zur medizinischen Vorgeschichte wurden durch standardisierte computergestützte persönliche Interviews erhoben. Alle Teilnehmer\*innen wurden einer umfassenden standardisierten medizinischen Untersuchung unterzogen. Die anthropometrischen Messungen umfassten Größe und Gewicht auf der Grundlage der Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO). Der Body-Mass-Index (BMI) wurde berechnet, indem das Gewicht (kg) durch das Quadrat der Körpergröße (m) geteilt wurde.

Allen Probanden und Probandinnen wurde zwischen 7 Uhr morgens und 13 Uhr nachmittags in nicht nüchternem Zustand in Rückenlage eine venöse Blutprobe entnommen. Die Proben wurden bei -80 °C in der Integrated Research Biobank (Liconic, Lichtenstein) der Universitätsmedizin Greifswald [30] gelagert und gemäß den dortigen Bestimmungen verwendet. Die Serumspiegel von Gesamtcholesterin, Low-Density-Lipoprotein (LDL-C), High-Density-Lipoprotein (HDL-C) und Triglyceriden wurden photometrisch bestimmt (Hitachi 704, Roche, Mannheim, Deutschland). Die Gal-3-Konzentrationen im Plasma wurden mit einem quantitativen Sandwich-Enzym-Immunoassay (R&D Systems, Abingdon, UK) bestimmt. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) wurde nach Levey et al. berechnet ( $eGFR = 186 \times (\text{Plasmakreatininkonzentration} \times 0,0113118) - 1,154 \times \text{Alter} - 0,203$ ), multipliziert mit 0,742 für weibliche Probandinnen und ausgedrückt als mL/min/1,73 m [31]. Der Menopausen-Status wurde anhand eines Fragebogens zum Ausbleiben der Menorrhoe ermittelt. Diabetes mellitus wurde definiert als ein glykosylierter Hämoglobin-A1c-Wert (HbA1c) > 6,5 %, eine antidiabetische Medikation (anatomischer, therapeutischer und chemischer [ATC] Code: A10) oder als Selbstauskunft auf der Grundlage der Frage, ob eine ärztliche Fachperson jemals Diabetes mellitus diagnostiziert hatte. Der systolische und diastolische Blutdruck wurde nach einer Ruhezeit von 5 Minuten in sitzender Position am rechten Arm gemessen. Mit jeweils einer dreiminütigen Pause wurden die Blutdruckmessungen dreimal durchgeführt. Es wird der Durchschnittswert der zweiten und dritten Messung angegeben. Geschultes und zertifiziertes Personal verwendete ein digitales Blutdruckmessgerät (HEM-750CP, Omron Corporation, Tokio, Japan). Hypertensive Studienteilnehmer\*innen wurden entweder durch eine selbst angegebene antihypertensive Medikation (ATC: C02, C03, C07, C08 und C09) oder einen systolischen Blutdruck von über 140 mmHg und einen diastolischen Wert von mehr als 90 mmHg identifiziert. Zweidimensionale M-Mode-Echokardiographie wurde mit dem Vivid-I-System (GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA) durchgeführt, wie an anderer Stelle ausführlich beschrieben [29]. Die Messung der LVEF erfolgte gemäß den Richtlinien der American Society of Echocardiography [32].

## **2.3 Belastungstest**

Die KRF-Parameter wurden mittels standardisiertem CPET auf einem Fahrradergometer (Ergoselect 100, Ergoline, Bitz, Deutschland) nach einem modifizierten Jones-Protokoll [33, 34] gemessen. Auf eine drei-minütige Ruhephase folgte eine Minute Radfahren ohne Belastung (20 Watt) bei 60 U/min. Danach wurde die Belastung in Schritten von 16 Watt pro Minute gesteigert. Vor dem Test wurden die Probanden und Probandinnen ermutigt bis zur maximalen Erschöpfung weiterzumachen, anschließend wurde während der Belastung keine weitere Ermutigung gegeben. Der Belastungstest konnte entweder von der Testperson aufgrund von Symptomen wie Erschöpfung, Dyspnoe oder Müdigkeit oder vom behandelnden Arzt/ der behandelnden Ärztin aufgrund von EKG-Auffälligkeiten abgebrochen werden. Alle Tests wurden in Raumluft gemäß den aktuellen Richtlinien für Belastungstests durchgeführt, wobei das EKG, der Blutdruck und die Sauerstoffsättigung kontinuierlich überwacht wurden.

## **2.4 Gasaustausch-Variablen**

Während des CPET wurde der Gasaustausch Atem für Atem mit einem OxyconPro und einer Rudolf-Maske (JÄGER/VIASYS Healthcare System, Hoechberg, Deutschland) gemessen. Dabei wurden folgende Parameter gemessen: Tidalvolumen ( $V_E$ ), Sauerstoffaufnahme ( $VO_2$ ) und Kohlendioxidabgabe ( $VCO_2$ ). Darüber hinaus wurde die Messung kontinuierlich mit einer Pulsoxymetrie, einer Blutdruckmessung und einem EKG gekoppelt. Die maximale Sauerstoffaufnahme wurde als der höchste 10-Sekunden-Durchschnitt der  $VO_2$  während der Spätphase der Belastung oder der Frühphase der Erholung definiert.

## **2.5 Statistik**

Um die männliche und weibliche Studienpopulation zu beschreiben, wurden altersspezifische  $VO_{2max}$ -Quartilen verwendet. Für die Berechnung der altersspezifischen Quartilen unterteilten wir die Studienpopulation in Altersstrata in Schritten von zehn Jahren und berechneten die Quartile für jedes dieser Strata. Kontinuierliche Daten werden als Median (25. Quartil; 75. Quartil) angegeben. Nominale Daten werden als Prozentsätze angegeben. Die unabhängige Variable ist die KRF, während die abhängige Variable Gal-3 ist. Zunächst wurde eine mögliche Interaktion für das Geschlecht zwischen der Assoziation der KRF und Gal-3 in dem vollständig angepassten multivariablen Regressionsmodell untersucht.

Danach wurden geschlechtsspezifische lineare Regressionsmodelle verwendet, um KRF-Parameter und Serum-Gal-3 in Beziehung zu setzen. Alle Modelle wurden für das Alter, den aktuellen Raucherstatus und die eGFR angepasst. Die Normalität und Homoskedastizität der Residuen wurden anhand von Histogrammen, Kernel-Density-Plots, Q-Q-Plots und Residuen-vs-fitted-Plots bewertet. Potenzielle nichtlineare Zusammenhänge wurden mit eingeschränkten kubischen Splines [35] getestet. Um festzustellen, ob die beobachteten Geschlechtsunterschiede mit dem Menopausen-Status zusammenhängen, wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt, bei der die weiblichen Studienteilnehmerinnen auf der Grundlage ihres Menopausen-Status stratifiziert wurden. Alle Berechnungen wurden in SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt. Statistische Signifikanz wurde definiert als  $p < 0,05$ .

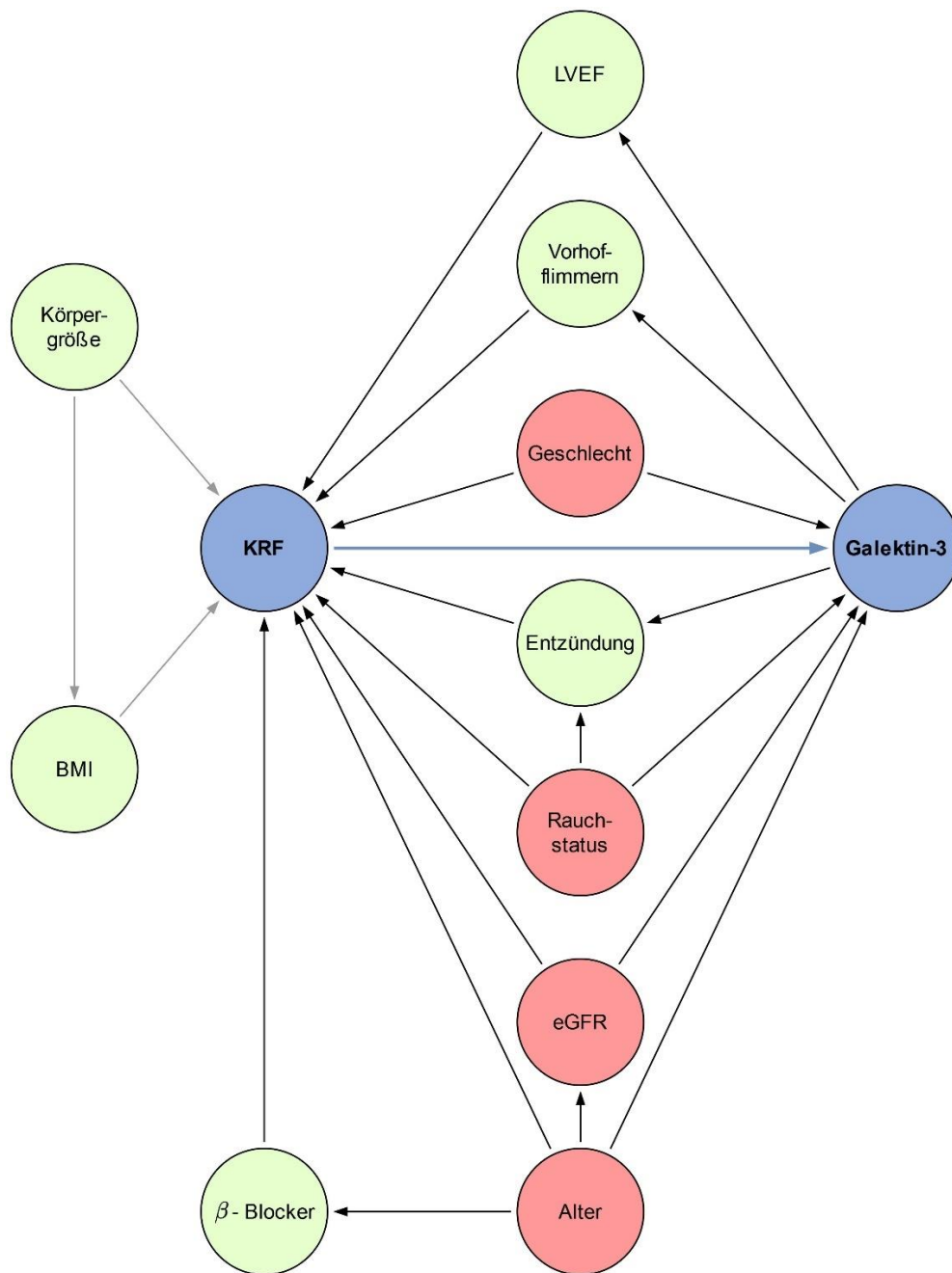


Abb. 3 Gerichteter azyklischer Graph zur Darstellung des potentiellen Zusammenhangs der kardiorespiratorischen Fitness und Galektin-3. Confounder sind in Rot gekennzeichnet [27]. BMI, body mass index; KRF, kardiorespiratorische Fitness; eGFR, glomeruläre Filtrationsrate; LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Deskriptive Statistik**

Insgesamt wurden 1515 Teilnehmende mit einem Medianalter von 49 Jahren (IQR: 39 - 59 Jahre, Männer 48%) in die Analyse einbezogen. Die deskriptive Beschreibung der Studienpopulation nach VO<sub>2</sub>max-geschlechts- und altersspezifischen Quartilen für Männer und Frauen wird jeweils in Tabelle 1 und Tabelle 2 dargestellt. Studienteilnehmende mit einer niedrigeren VO<sub>2</sub>max zeigten eine signifikant höhere körperliche Inaktivität, hatten einen höheren BMI und rauchten häufiger, unabhängig des Geschlechts. Zusätzlich war eine höhere VO<sub>2</sub>max auch mit einer höheren Magermasse verbunden. Unterschiede in der VO<sub>2</sub>max standen in keinem signifikanten Zusammenhang mit einem Bluthochdruck, der eGFR oder dem metabolischen Syndrom. Bei den Männern korrelierte die VO<sub>2</sub>max nicht mit der Fettmasse, während höhere VO<sub>2</sub>max-Level bei Frauen mit einer größeren Fettmasse verbunden waren. Darüber hinaus waren die Gal-3-Plasmaspiegel bei Frauen im Allgemeinen höher als bei Männern.

Tabelle 1 Deskriptive Charakteristika der männlichen Stichprobe nach alters- und geschlechtsspezifischen VO<sub>2</sub>max Quartilen

		VO <sub>2</sub> max Quartilen				
		I	II	III	IV	
mL/min		1687 - 2200	2100- 2633	2363- 2968	2813- 3447	p for trend
n		178	177	188	184	
Alter (Jahre)		49 (39; 59)	48 (39;59)	50 (40;60)	49 (39; 59)	0.91
Galektin-3 (ng/mL)		7.31 (5.37; 9.07)	7.02 (5.60; 8.49)	7.02 (5.66;8.30)	6.63 (5.32; 7.96)	0.12
Körpergröße (cm)		175 (170; 180)	176 (172; 180)	177 (174; 181)	180 (175; 184)	<.01
Körpergewicht (kg)		81.9 (75.1; 91.5)	82.4 (76.9; 92.7)	86.8 (79.8; 95.6)	88.9 (81.6; 98.6)	<.01
Taillenumfang (cm)		93.0 (86.2; 102.3)	93.0 (85.6; 99.4)	94.1 (87.0; 104.0)	94.0 (86.6; 101.5)	0.59
Hüftumfang (cm)		99.5 (95.5; 103.9)	99.5 (94.5; 104.0)	100.8 (96.6; 106.2)	101.1 (97.3; 107.8)	<.01
Risikofaktoren	eGFR (mL/min/1,72 mm <sup>2</sup> )	89.9 (88.7; 110.7)	99.4 (91.0; 109.2)	98.9 (91.1; 106.3)	97.6 (88.9; 108.4)	0.64
	Bluthochdruck (%)	47.46	52.54	49.20	40.76	0.15
	Diabetes (%)	8.99	7.91	7.98	5.98	0.75
	Metabolisches Syndrom (%)	35.84	26.86	32.80	22.95	0.03
	Körperliche Inaktivität (%)	44.38	24.86	26.06	16.30	<.01
	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.0 (24.5; 29.5)	27.1 (24.8; 29.4)	27.7 (25.5; 30.7)	27.8 (25.3; 30.4)	0.04
	HbA1c (%)	5.3 (4.9; 5.7)	5.3 (5.0; 5.6)	5.3 (5.0; 5.5)	5.2 (4.9; 5.6)	0.30
Raucherstatus	Nicht-Raucher (%)	21.91	28.81	29.79	44.57	<.01
	Ex-Raucher (%)	36.52	46.33	49.47	46.20	<.01
	Raucher (%)	41.57	24.86	20.74	9.24	<.01
BIA	Fettmasse (kg)	19.2 (15.2; 23.8)	19.3 (15.6; 24.4)	20.8 (15.5; 25.4)	19.7 (15.6; 24.8)	0.42
	Magermasse (kg)	63.3 (58.2; 68.4)	64.3 (59.7; 70.6)	67.4 (63.0; 72.5)	69.5 (64.8; 74.7)	<.01
CPET	Watt max	164 (132; 180)	196 (164; 228)	212 (180; 244)	244 (212; 276)	<.01
	HF max	154 (137; 171)	166 (150; 181)	166 (147; 179)	171 (162; 181)	<.01
	VO <sub>2</sub> @AS (mL/min)	900 (850; 1000)	1100 (1000; 1250)	1200 (1100; 1350)	1400 (1300; 1550)	<.01
	VE/CO <sub>2</sub>	35 (31; 40)	35 (31; 38)	35 (31; 38)	35 (31; 38)	0.28
	VE/CO <sub>2</sub> @AT	27 (25; 30)	26 (24; 28)	25 (24; 28)	25 (23; 27)	<.01
	VE/CO <sub>2</sub> max	30 (27; 33)	30 (27; 29)	30 (26; 32)	30 (27;33)	0.32
	VE/CO <sub>2</sub> slope	28 (25; 30)	27 (24; 29)	26 (24; 29)	26 (24;28)	<.01

Die kontinuierlichen Werte werden als Median mit 25. und 75. Perzentil, kategoriale Variablen als Prozentsatz angegeben. eGFR, estimated glomerular filtration rate; BMI, Body-Mass-Index; HF max, maximale Herzfrequenz; VO<sub>2</sub>@AT, maximale Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle; BIA, bioelektrische Impedanz-Analyse.

Tabelle 2 Deskriptive Charakteristika der weiblichen Stichprobe nach alters- und geschlechtsspezifischen VO<sub>2</sub>max Quartilen

		VO <sub>2</sub> max Quartilen				
		I	II	III	IV	
mL/min		1104- 1373	1390- 1650	1559- 1878	1882- 2200	p for trend
n		195	194	198	201	
Alter (Jahre)		49 (39; 60)	48 (39; 59)	49 (39; 60)	49 (39; 60)	0.98
Galektin-3 (ng/mL)		7.34 (6.01; 9.32)	7.33 (5.86; 8.83)	7.78 (6.14; 9.05)	7.50 (6.24; 9.15)	0.52
Körpergröße (cm)		163 (158; 167)	164 (159; 168)	165 (161; 169)	167 (163; 171)	<.01
Körpergewicht (kg)		64.8 (57.4; 73.6)	68.5 (62.3; 75.2)	73.0 (63.6; 80.7)	74.7 (66.4; 83.0)	<.01
Tailenumfang (cm)		78.5 (71.7; 87.5)	79.5 (72.5; 87.7)	81.6 (75.0; 91)	82.8 (75.1; 92.0)	<.01
Hüftumfang (cm)		96.0 (90.8; 104.4)	98.0 (93.5; 106.5)	101.5 (94.0; 108.0)	101.5 (94.0; 108.0)	<.01
Risikofaktoren	eGFR (mL/min/1,72 mm <sup>2</sup> )	98.5 (89;1; 108;5)	99.1 (87.0; 109.1)	97.4 (86.4; 106.4)	97.3 (84.9; 107.4)	0.42
	Bluthochdruck (%)	33.33	29.53	33.84	30.35	0.74
	Diabetes (%)	4.62	7.22	8.08	2.99	0.11
	Metabolisches Syndrom (%)	15.38	15.71	16.92	11.50	0.46
	Körperliche Inaktivität (%)	40.51	26.29	24.75	12.94	<.01
	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.3 (21.8; 27.8)	25.7 (23.1; 28.1)	26.4 (23.4; 30.1)	26.9 (24.0; 30.6)	<.01
	HbA1c (%)	5.1 (4.8; 5.4)	5.1 (4.8; 5.4)	5.2 (4.8; 5.6)	5.2 (4.8; 5.5)	0.28
Rauchstatus	Nicht-Raucher (%)	40.00	48.45	47.98	48.26	0.06
	Ex-Raucher (%)	28.72	30.93	32.83	32.84	0.06
	Raucher (%)	31.28	20.62	19.19	18.91	0.06
BIA	Fettmasse (kg)	20.7 (15.4;26.6)	22.7 (17.6; 27.1)	24.9 (18.3; 31.4)	25.8 (19.7; 31.4)	<.01
	Magermasse (kg)	44.1 (41.0; 47.7)	46.5 (43.6; 48.5)	47.2 (44.5; 51.5)	49.3 (46.5; 52.6)	<.01
CPET	Watt max	116 (84; 116)	132 (116; 132)	148 (116; 148)	164 (148; 180)	<.01
	HR max	155 (133; 169)	160 (142; 173)	164 (146; 173)	164 (151; 176)	<.01
	VO <sub>2</sub> @AT (mL/min)	700 (650; 800)	800 (750; 900)	900 (800; 950)	1050 (900; 1200)	<.01
	VE/CO <sub>2</sub>	35 (31; 38)	35 (32; 40)	35 (31; 37)	35 (31;38)	0.18
	VE/CO <sub>2</sub> @AT	28 (25; 30)	27 (24; 29)	26 (25; 28)	26 (24;28)	<.01
	VE/CO <sub>2</sub> max	30 (27;33)	29 (26; 33)	29 (26; 32)	29 (26; 31)	0.02
	VE/CO <sub>2</sub> slope	28 (25; 30)	27 (25; 29)	27 (24; 28)	26 (24;28)	<.01

Die kontinuierlichen Werte werden als Median mit 25. und 75. Perzentil, kategorische Variablen als Prozentsatz angegeben. eGFR, estimated glomerular filtration rate; BMI, Body-Mass-Index; HF max, maximale Herzfrequenz; VO<sub>2</sub>@AT, maximale Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle; BIA, bioelektrische Impedanz-Analyse.

### 3.2 Assoziation zwischen der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse werden in Tabelle 3 dargestellt. Bei Männern war die maximale Sauerstoffaufnahme invers mit Gal-3 assoziiert. Insbesondere war eine um 1 l/min höhere VO<sub>2</sub>peak signifikant mit 0,50 ng/mL niedrigerem Gal-3 verbunden. Ähnlich war eine um 1 ml/min/kg höhere VO<sub>2</sub>peak, die an das Körpergewicht angepasst war, bei Männern mit -0,0286 ng/mL weniger Gal-3 assoziiert. Wenn die VO<sub>2</sub>peak an die Magermasse angepasst war, war eine um 1 ml/kg/min höhere VO<sub>2</sub>peak mit einem um -0,0022 ng/mL geringeren Gal-3 korreliert. In Bezug auf die Leistung war eine 1 Watt höhere Leistung mit -0,0078 ng/mL niedrigerem Gal-3 assoziiert. Bei der für das Gewicht adjustierten Leistung, war eine Steigerung um 1 Watt pro kg mit einem um 0,3983 ng/mL niedrigeren Gal-3 assoziiert. Wir fanden keine signifikante Assoziation der VO<sub>2</sub>peak, oder der VO<sub>2</sub>peak adjustiert für die Magermasse, mit Gal-3 bei den Frauen. Im Gegensatz dazu war eine um 1 ml/min/kg höhere für das Körpergewicht adjustierte VO<sub>2</sub>peak signifikant mit einem um -0,0064 ng/mL geringeren Gal-3 assoziiert. Hinsichtlich der maximalen Leistung war eine Steigerung um 1 Watt mit einem um -0,0049 ng/mL geringeren Gal-3 assoziiert. Wenn die Leistung an das Körpergewicht angepasst wurde, war ein Anstieg um 1 Watt mit einem um 0,8718 ng/mL reduzierten Gal-3 assoziiert.

Table 3 Assoziation der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 bei Männern und Frauen

	Männer			Frauen		
	Estimate	95% CI	p-Wert	Estimate	95% CI	p-Wert
VO <sub>2</sub> peak (l/min)	-0.5003	-0.8068; -0.1938	<.01	-0.2046	-0.6541; 0.2449	0.37
VO <sub>2</sub> peak/kg (ml/min/kg)	-0.0286	-0.0052; -0.0005	0.02	-0.0064	-0.0092; -0.0035	<.01
VO <sub>2</sub> peak/Magermasse (ml/min/kg)	-0.0022	-0.0043; -0.0007	0.04	-0.0019	-0.0421; 0.0050	0.12
Watt max (W)	-0.0078	-0.1174; -0.0038	<.01	-0.0049	-0.0011; 0.0007	0.09
Watt max/kg (W/kg)	-0.3983	-0.6920; -0.1046	<.01	-0.8718	-1.2145; -0.5292	<.01

### 3.3 Einfluss der Menopause auf die Assoziation zwischen der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse für die Assoziation zwischen der KRF und Gal-3 bei Frauen, die nach dem Menopausen-Status stratifiziert sind, werden in Tabelle 4 dargestellt. Insgesamt waren 367 Frauen prä- und 421 postmenopausal. Bei den prämenopausalen Frauen war eine um 1 L/Minute höhere VO<sub>2</sub>max nicht mit Gal-3 assoziiert. Wenn die VO<sub>2</sub>max für das Gewicht adjustiert wurde, war eine um 1 ml/min/kg höhere KRF mit einem um -0,0640 ng/mL geringeren Gal-3 assoziiert. Bei prämenopausalen Frauen führte die Anpassung der VO<sub>2</sub>max an die Magermasse zu einer nicht signifikanten Beziehung zwischen der KRF und Gal-3. Ebenso war bei den prämenstrualen Frauen die maximale Leistung nicht mit Gal-3 assoziiert, während die für das Körpergewicht adjustierte Leistung signifikant mit einem um -0,9412 ng/mL niedrigeren Gal-3 assoziiert war. Bei den postmenopausalen Frauen war die VO<sub>2</sub>max nicht mit Gal-3 assoziiert. Eine um 1 ml/kg/min höhere für das Körpergewicht adjustierte VO<sub>2</sub>max, war mit einem um -0,0460 ng/mL geringeren Gal-3 verbunden. Die Adjustierung an die Magermasse annullierte diese signifikante Assoziation. Die maximale Leistung war nicht mit Gal-3 assoziiert. Eine um 1 Watt/kg höhere Leistung, die an Gewicht angepasst wurde, war signifikant mit einem um -0,5748 ng/mL geringeren Gal-3 assoziiert.

Tabelle 4 Assoziation der kardiorespiratorischen Fitness mit Galektin-3 in der weiblichen Stichprobe prä- und postmenopausal

	Prämenopausal			Postmenopausal		
	Estimate	95% CI	p-Wert	Estimate	95% CI	p-Wert
VO <sub>2</sub> peak (l/min)	0.3737	-0.5202; 0.5950	0.90	-0.2095	-0.9331; 0.5140	0.57
VO <sub>2</sub> peak/kg (ml/min/kg)	-0.0640	-0.0099; -0.0293	<.01	-0.0460	-0.0927; 0.0009	0.05
VO <sub>2</sub> peak/Magermasse (ml/min/kg)	-0.0194	-0.0049; 0.0103	0.20	-0.0054	-0.0420; 0.0313	0.77
Watt max (W)	-0.0021	-0.0095; 0.0053	0.58	-0.0036	-0.0012; 0.0050	0.41
Watt max/kg (W/kg)	-0.9412	-1.3733; -0.5090	<.01	-0.5748	-1.1125; -0.0372	0.04

## 4. Diskussion

Eine Reihe von Studien konnten bereits eine signifikante Assoziation zwischen Gal-3 mit kardiovaskulären Risikofaktoren nachweisen. Jedoch gab es nur wenige Untersuchungen zum Verhältnis zwischen der KRF und Gal-3. Die meisten Studien konzentrierten sich dabei auf Probanden mit manifesten Erkrankungen wie die Herzinsuffizienz [15–19]. Andere Studien umfassten Patienten und Patientinnen mit Lungen- [23,36,37], Nieren- [22] oder Leberfibrose [21], sowie einem erhöhtem Risiko für chronische Nierenerkrankungen [22]. Im Gegensatz dazu haben wir Daten aus einer bevölkerungsbasierten Kohorte verwendet und schlossen Personen mit verschiedenen manifesten Erkrankungen aus, um das Verhältnis der KRF und Gal-3 zu untersuchen. Nach Anpassung an das Körpergewicht und andere Confounder, konnten wir eine inverse Assoziation zwischen der KRF und Gal-3 bei Männern und Frauen finden. Zudem konnten wir zeigen, dass die beobachteten Assoziationen bei Frauen unabhängig vom Menopausen-Status sind.

Interessanterweise zeigte eine frühere randomisierte kontrollierte klinische Studie bei postmenopausalen Frauen, dass Hochintensitäts-Intervalltraining im Vergleich zu moderatem kontinuierlichem Ausdauertraining die Genexpression von Gal-3 im Blut deutlich reduziert [38]. In beiden Trainingsgruppen sank Gal-3 im Vergleich zum Ausgangswert, während Gal-3 in der Kontrollgruppe zunahm. Niedrigere Gal-3-Konzentrationen aufgrund von Trainingsmaßnahmen könnten daher ein möglicher Mechanismus für die antifibrotischen Wirkungen von Sport sein. In einer weiteren Studie, der HF-Action-Studie, war in den Basischarakteristika eine niedrigere KRF mit einer höheren Gal-3-Konzentration verbunden [39]. Neben den bereits erwähnten positiven Auswirkungen von Trainingsinterventionen könnten die Ergebnisse der HF-Action-Studie einen zusätzlichen Mechanismus für die schädlichen fibrotischen Auswirkungen einer niedrigen KRF aufzeigen, der möglicherweise durch Gal-3 vermittelt wird. Leider wurde für die HF-Action-Studie nicht berichtet, ob Änderungen der  $VO_2$ peak in Zusammenhang mit Gal-3 stehen.

Bei Ausdauersportler\*innen, die in der Regel eine höhere KRF als die Allgemeinbevölkerung aufweisen, sind Gal-3-Werte zwar innerhalb des Normbereichs, aber höher als bei gesunden, vor allem sitzenden Kontrollpersonen [40]. Dies deckt sich mit der Annahme, dass ein lang andauerndes Hochintensitätstraining das Risiko für eine kardiale Fibrose erhöhen kann. Bei Patienten und Patientinnen mit chronischer Herzinsuffizienz erhöhte das körperliche Training die KRF, jedoch war diese Erhöhung nicht mit Veränderungen der Gal-3-Konzentration assoziiert [41]. Die Autoren und Autorinnen kamen sogar zu dem Schluss, dass die

inkonsistenten unabhängigen Assoziationen zwischen der KRF und Gal-3 den Nutzen für die Patientenüberwachung einschränken. Insgesamt stützen sowohl unsere, als auch vorherige Ergebnisse die Rolle von Gal-3 als Biomarker für die KRF. Diese Beziehung kann jedoch vom Geschlecht der Patient\*innen, des Trainings- und Krankheitsstatus beeinflusst werden.

Besonders interessant sind die geschlechtsspezifischen Assoziationen zwischen der KRF und Gal-3. Eine vorherige Studie berichtete auch geschlechtsbezogene Unterschiede in der Assoziation von Gal-3 mit Herzinsuffizienz [26]. Die Analyse nutzte Daten von vier Kohorten einer bevölkerungsbasierten Längsschnittstudie mit 22.756 Teilnehmern. Die Plasmakonzentrationen von Gal-3 waren bei Frauen stärker mit Herzinsuffizienz assoziiert als bei Männern. Eine andere Studie untersuchte die Beziehung zwischen der Schwere von Schlafapnoe und den Plasmaspiegeln von Gal-3, da Schlafapnoe mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen verbunden ist [42]. Die Kohorte der Querschnittstudie umfasste 471 hispanische Amerikaner. Bei den Frauen mit mittelschwerer bis schwerer Schlafapnoe konnten signifikant höhere Gal-3-Spiegel gefunden werden, nicht jedoch bei Männern. Wir konnten zeigen, dass die KRF, unabhängig der Adjustierung für andere Parameter, bei Männern negativ mit Gal-3 assoziiert war, während bei Frauen nur die Adjustierung an das Körpergewicht eine signifikante inverse Assoziation zwischen der KRF und Gal-3 aufwies. Demnach unterstützen unsere Ergebnisse weiterhin die Hypothese, dass Gal-3 möglicherweise ein geschlechtsspezifischer Marker im Hinblick auf kardiovaskuläre Risikofaktoren wie die KRF oder Schlafapnoe sein könnte. Der spezifische biologische Mechanismus, der unseren Beobachtungen zugrunde liegt, ist bisher unklar. Es gibt mehrere generelle Unterschiede zwischen Frauen und Männern, die die beobachteten Assoziationen beeinflussen können, wie die Körperzusammensetzung, die Fettverteilung, die unterschiedliche Muskelzusammensetzung oder die spezifischen Geschlechtshormone [43]. Darüber hinaus konnten wir feststellen, dass die Gal-3-Spiegel bei Frauen im Allgemeinen höher sind als bei Männern. Diese Ergebnisse könnten zu der Annahme führen, dass Geschlechtshormone eine Rolle bei den geschlechtsspezifischen Assoziationen von Gal-3 und dem kardiovaskulären System spielen. Wie zuvor erwähnt, wird Gal-3 im Allgemeinen als Marker für organspezifische sowie systemische Fibrose betrachtet. Neuere Erkenntnisse deuten darauf hin, dass geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich einer systemischen und organbezogenen Fibrose vorliegen [44]. Es gibt starke Argumente dafür, dass die dieser Beobachtung zugrundeliegende Biologie von Geschlechtshormonen gesteuert wird. Während auch wir geschlechtsspezifische Assoziationen zwischen der KRF und dem Fibrosemarker Gal-3 fanden, fanden wir jedoch keine Hinweise darauf, dass diese Beobachtung auf den Status der

Menopause zurückzuführen war, da wir keine Unterschiede zwischen prä- und postmenopausalen Frauen fanden. Die KRF kann durch regelmäßige körperliche Betätigung und Sport gesteigert werden, wodurch auch die Herzgesundheit verbessert werden kann. Die Mechanismen, die diesen Beobachtungen zugrunde liegen, wurden von Tiermodellen unterstützt [45]. Ein großer Nachteil ist jedoch, dass die meisten Untersuchungen ausschließlich an männlichen Tieren durchgeführt wurden. Daher sollte zukünftige Forschung mehr weibliche Tiere einbeziehen, um unser Verständnis der potentiellen geschlechtsbezogenen Bedeutung von Gal-3 besser zu verstehen. Insgesamt sollten die geschlechtsspezifischen Assoziationen zwischen kardiovaskulärem Risiko und Gal-3, die von anderen [26] und von uns selbst identifiziert wurden, in Zukunft weiter erforscht werden.

Die Stärken unseres Studiendesigns sind die große Stichprobengröße (n= 1.515) und der bevölkerungsbasierte Ansatz. Diese konnten es ermöglichen, aus unseren Ergebnissen auf die allgemeine Bevölkerung zu schließen. Zusätzlich wurden während der Studie hochstandardisierte Qualitätskontrollen durchgeführt. Allerdings müssen die Ergebnisse dieser Studie dennoch im Kontext einiger Einschränkungen interpretiert werden. Da es sich um eine Beobachtungsstudie mit Querschnittsanalyse zu einem Zeitpunkt handelt, können wir die Richtung der untersuchten Assoziation nicht abschließend bestimmen. Eine weitere Einschränkung ist, dass die Ergebnisse nicht direkt auf andere Ethnien anwendbar sind, da an SHIP hauptsächlich Kaukasier\*innen teilgenommen haben. Zuletzt können wir zudem nicht ausschließen, dass es noch weitere Störfaktoren gibt, die die Ergebnisse beeinflussen könnten.

## 5. Schlussfolgerung

Zusammenfassend berichten wir, dass in unserer bevölkerungsbasierten Stichprobe, nach Ausschluss von Probanden und Probandinnen mit einer Vielzahl bereits manifester Krankheiten, die KRF invers mit Gal-3 assoziiert ist. Bei Männern waren die VO<sub>2</sub>max-Werte invers mit Gal-3 assoziiert, während die an das Körpergewicht adjustierten VO<sub>2</sub>max-Werte unabhängig vom Geschlecht invers mit Gal-3 assoziiert waren. Unsere Ergebnisse könnten für die präventive Kardiologie von Interesse sein. Insbesondere ist bekannt, dass körperliches Training sowohl die VO<sub>2</sub>max verbessert als auch Fibrose reduziert [45]. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass niedrigere Gal-3-Konzentrationen möglicherweise einen potenziellen Mechanismus darstellen, der diese Beobachtung erklären könnte. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um mögliche geschlechtsspezifische Assoziationen und deren zugrunde liegenden Mechanismen zwischen der KRF und Gal-3 zu bestätigen und vollständig zu verstehen. Gal-3 könnte somit das Potential haben zukünftig als prognostischer geschlechtsspezifischer kardiovaskulärer Risikofaktor genutzt zu werden.

## 6. Anhang

### 6.1 Quellenverzeichnis

1. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ *et al.* Heart disease and stroke statistics—2020 update: A report from the American Heart Association. *Circulation* 2020, DOI: 10.1161/CIR.0000000000000757.
2. Timmis A, Townsend N, Gale CP *et al.* European society of cardiology: Cardiovascular disease statistics 2019. *Eur Heart J* 2020;**41**, DOI: 10.1093/eurheartj/ehz859.
3. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM *et al.* 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Prev Cardiol* 2021, DOI: 10.1093/eurjpc/zwab154.
4. Kokkinos PF, Faselis C, Myers J *et al.* Cardiorespiratory Fitness and Incidence of Major Adverse Cardiovascular Events in US Veterans: A Cohort Study. *Mayo Clin Proc* 2017;**92**, DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.09.013.
5. Brandes M. Körperliche Aktivität oder Fitness: Was ist Wichtiger für die Gesundheit? *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 2012;**55**:96–101.
6. Guazzi M, Bandera F, Ozemek C *et al.* Cardiopulmonary Exercise Testing: What Is its Value? *J Am Coll Cardiol* 2017;**70**:1618–36.
7. Karvonen S, Waller K, Silvennoinen M *et al.* Physical activity in adulthood: genes and mortality. *Sci Rep* 2015;**5**:18259.
8. Katsimpris A, Jürgens C, Lüttke L *et al.* Association between cardiorespiratory fitness and handgrip strength with age-related macular degeneration: A population-based study. *Br J Ophthalmol* 2020, DOI: 10.1136/bjophthalmol-2020-316255.
9. Thompson PD, Buchner D, Pina IL *et al.* Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2003;**107**:3109–16.
10. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985;**100**:126–31.
11. Rabinovich GA, Toscano MA. Turning “sweet” on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2009;**9**:338–52.
12. Du XJ, Zhao WB, Nguyen MN *et al.*  $\beta$ -Adrenoceptor activation affects galectin-3 as a biomarker and therapeutic target in heart disease. *Br J Pharmacol* 2019;**176**, DOI: 10.1093/ajph/2019.176.1263-1264.

10.1111/bph.14620.

13. Dong R, Zhang M, Hu Q *et al.* Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med* 2018;**41**:599–614.

14. Amin HZ, Amin LZ, Wijaya IP. Galectin-3: A novel biomarker for the prognosis of heart failure. *Clujul Med* 2017;**90**, DOI: 10.15386/cjmed-751.

15. Oikonomou E, Vogiatzi G, Tsalamandris S *et al.* Non-natriuretic peptide biomarkers in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *Biomark Med* 2018;**12**, DOI: 10.2217/bmm-2017-0376.

16. Zhong X, Qian X, Chen G *et al.* The role of galectin-3 in heart failure and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2019;**46**, DOI: 10.1111/1440-1681.13048.

17. Daniels LB, Clopton P, Laughlin GA *et al.* Galectin-3 is independently associated with cardiovascular mortality in community-dwelling older adults without known cardiovascular disease: The Rancho Bernardo Study. *Am Heart J* 2014;**167**, DOI: 10.1016/j.ahj.2013.12.031.

18. Ho JE, Liu C, Lyass A *et al.* Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J Am Coll Cardiol* 2012;**60**, DOI: 10.1016/j.jacc.2012.04.053.

19. Djoussé L, Matsumoto C, Petrone A *et al.* Plasma galectin 3 and heart failure risk in the Physicians' Health Study. *Eur J Heart Fail* 2014;**16**, DOI: 10.1002/ejhf.21.

20. van Kimmenade RR, Januzzi JLJ, Ellinor PT *et al.* Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;**48**:1217–24.

21. Lok DJA, Van Der Meer P, de la Porte PWB-A *et al.* Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol* 2010;**99**:323–8.

22. Hara A, Niwa M, Noguchi K *et al.* Galectin-3 as a next-generation biomarker for detecting early stage of various diseases. *Biomolecules* 2020;**10**, DOI: 10.3390/biom10030389.

23. Slack RJ, Mills R, Mackinnon AC. The therapeutic potential of galectin-3 inhibition in fibrotic disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2021;**130**, DOI: 10.1016/j.biocel.2020.105881.

24. Blanda V, Bracale UM, Di Taranto MD *et al.* Galectin-3 in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2020;**21**, DOI: 10.3390/ijms21239232.

25. Yu L, Ruifrok WPT, Meissner M *et al.* Genetic and pharmacological inhibition of galectin-3 prevents cardiac remodeling by interfering with myocardial fibrogenesis. *Circ Heart Fail* 2013;**6**:107–17.

26. Suthahar N, Lau ES, Blaha MJ *et al.* Sex-Specific Associations of Cardiovascular Risk

- Factors and Biomarkers With Incident Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 2020;**76**, DOI: 10.1016/j.jacc.2020.07.044.
27. Haid ME, Zylla S, Paulista Markus MR *et al*. Sex-specific associations of cardiorespiratory fitness and galectin-3 in the general population. *ESC Hear Fail* 2022:4240–9.
28. Lau ES, Binek A, Parker SJ *et al*. Sexual Dimorphism in Cardiovascular Biomarkers: Clinical and Research Implications. *Circ Res* 2022;**130**:578–92.
29. Völzke H, Alte D, Schmidt CO *et al*. Cohort profile: The study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol* 2011;**40**, DOI: 10.1093/ije/dyp394.
30. Winter T, Friedrich N, Lamp S *et al*. The integrated research biobank of the university medicine greifswald. *Open J Bioresour* 2020;**7**:1–6.
31. Stevens LA, Coresh J, Greene T *et al*. Assessing Kidney Function — Measured and Estimated Glomerular Filtration Rate. *N Engl J Med* 2006;**354**, DOI: 10.1056/nejmra054415.
32. Schiller NB, Shah PM, Crawford M *et al*. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr* 1989;**2**:358–67.
33. Jones NL, Makrides L, Hitchcock C *et al*. Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. *Am Rev Respir Dis* 1985;**131**, DOI: 10.1164/arrd.1985.131.5.700.
34. Koch B, Schäper C, Ittermann T *et al*. Reference values for cardiopulmonary exercise testing in healthy volunteers: The SHIP study. *Eur Respir J* 2009;**33**, DOI: 10.1183/09031936.00074208.
35. Stone CJ, Koo C-Y. Additive Splines in Statistics. *Proc Stat Comput Sect* 1985:45–8.
36. Nishi Y, Sano H, Kawashima T *et al*. Role of galectin-3 in human pulmonary fibrosis. *Allergol Int* 2007;**56**, DOI: 10.2332/allergolint.O-06-449.
37. Mackinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL *et al*. Regulation of transforming growth factor- $\beta$ 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;**185**:537–46.
38. Keyhani D, Tartibian B, Dabiri A *et al*. Effect of High-Intensity Interval Training Versus Moderate-Intensity Aerobic Continuous Training on Galectin-3 Gene Expression in Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *J Aging Phys Act* 2020:1–9.
39. Felker GM, Fiuzat M, Shaw LK *et al*. Galectin-3 in ambulatory patients with heart failure: results from the HF-ACTION study. *Circ Heart Fail* 2012;**5**:72–8.
40. Hättasch R, Spethmann S, de Boer RA *et al*. Galectin-3 increase in endurance athletes.

*Eur J Prev Cardiol* 2014;**21**:1192–9.

41. Fudim M, Kelly JP, Jones AD *et al.* Are existing and emerging biomarkers associated with cardiorespiratory fitness in patients with chronic heart failure? *Am Heart J* 2020;**220**:97–107.

42. Singh M, Hanis CL, Redline S *et al.* Sleep apnea and galectin-3: possible sex-specific relationship. *Sleep Breath* 2019;**23**, DOI: 10.1007/s11325-019-01788-5.

43. Gerdtts E, Regitz-Zagrosek V. Sex differences in cardiometabolic disorders. *Nat Med* 2019;**25**:1657–66.

44. Garate-Carrillo A, Gonzalez J, Ceballos G *et al.* Sex related differences in the pathogenesis of organ fibrosis. *Transl Res* 2020;**222**:41—55.

45. Kyselovič J, Leddy JJ. Cardiac Fibrosis: The Beneficial Effects of Exercise in Cardiac Fibrosis. *Adv Exp Med Biol* 2017;**999**:257–68.

## **6.2 Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Datum, Unterschrift

### **6.3 Danksagung**

Hiermit möchte ich mich herzlich bei allen Beteiligten für die hervorragende Unterstützung bei der Entstehung und Bearbeitung meiner Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dörr für regelmäßige spannende Diskussionen, die sehr gute wissenschaftliche Betreuung, sowie für die konstruktiven Hinweise und Anregungen.

Herrn PD Dr. Dr. Bahls gebührt ebenso ein ganz besonderer Dank, für die Vermittlung seiner wissenschaftlichen Kenntnisse, sein besonderes Engagement, und die unersetzbare Unterstützung vor allem auch in Hinblick auf die statistische Auswertung. Dies alles hat maßgeblich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen. Ich bedanke mich aufrichtig für die stetige Unterstützung.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen weiteren Koautoren und Koautorinnen für die konstruktive Kritik und die gute Zusammenarbeit zur Entstehung der zugrundeliegenden Publikation bedanken.

## 6.4 Publikation

Der nun folgende wissenschaftliche Artikel liegt dieser Arbeit zu Grunde und ist auf den nachfolgenden Seiten reproduziert.

### **Sex-specific associations of cardiorespiratory fitness and Galectin-3 in the general population**

Authors: Magdalena E. Haid<sup>a,b</sup>, Stephanie Zylla<sup>b,c</sup>, Marcello Ricardo Paulista Markus<sup>a,b</sup>, Nele Friedrich<sup>b,c</sup>, Ralf Ewert<sup>a</sup>, Sven Gläser<sup>a,d,e</sup>, Stephan B. Felix<sup>a,b</sup>, Marcus Dörr<sup>a,b</sup>, Martin Bahls<sup>a,b</sup>

*ESC Heart Failure* 2022; **9**: 4240–4249

Published online 16 September 2022 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)

DOI: 10.1002/ehf2.14151

Affiliations:

<sup>a</sup> Department of Internal Medicine B, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany


<sup>b</sup> German Centre of Cardiovascular Research (DZHK), partner site Greifswald, Greifswald, Germany

<sup>c</sup> Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany.

<sup>d</sup> Vivantes Klinikum Spandau, Berlin, Germany

<sup>e</sup> Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin, Germany

# Sex-specific associations of cardiorespiratory fitness and galectin-3 in the general population

Magdalena E. Haid<sup>1,2</sup>, Stephanie Zylla<sup>2,3</sup>, Marcello Ricardo Paulista Markus<sup>1,2</sup>, Nele Friedrich<sup>2,3</sup>, Ralf Ewert<sup>1</sup>, Sven Gläser<sup>1,4,5</sup>, Stephan B. Felix<sup>1,2</sup>, Marcus Dörr<sup>1,2</sup> and Martin Bahls<sup>1,2\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine B, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany; <sup>2</sup>German Centre of Cardiovascular Research (DZHK), partner site Greifswald, Greifswald, Germany; <sup>3</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Greifswald, Germany; <sup>4</sup>Vivantes Klinikum Spandau, Berlin, Germany; and <sup>5</sup>Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin, Germany

## Abstract

**Aims** Low cardiorespiratory fitness (CRF) is associated with greater mortality and morbidity. Galectin-3 (Gal-3) is a prognostic biomarker for fibrosis and heart failure. Gal-3 is also associated with a greater risk for cardiovascular mortality. Whether CRF is related with Gal-3 is unclear. The objective of this study was to assess the sex-specific associations of CRF and Gal-3 levels in the general population.

**Methods** Gal-3 concentrations were determined using a sandwich enzyme immunoassay in the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0). Sex-stratified linear regression models adjusted for age, current smoking status, and renal function were used. Individuals with left ventricular ejection fraction (LVEF) <40%, previous myocardial infarction, atrial fibrillation, chronic lung disease, severe renal disease (estimated glomerular filtration rate <30 mL/min/mm<sup>2</sup>), a history of cancer, and extreme values for Gal-3 (<1st percentile; >99th percentile) were excluded.

**Results** A total of  $n = 1515$  participants with a median age of 49 (IQR: 39–60 years, 48% males) were included. In men, a 1 L/min greater VO<sub>2</sub>peak was significantly related to 0.50 ng/mL (95% CI –0.8068 to –0.1938,  $P < 0.01$ ) less Gal-3. In males, a 1 mL/min/kg higher VO<sub>2</sub>peak adjusted for body weight was associated with –0.0286 ng/mL (95% CI –0.0052 to –0.0005,  $P = 0.02$ ) less Gal-3. When VO<sub>2</sub>peak was adjusted for lean mass 1 mL/kg/min more was correlated with a –0.0022 ng/mL (95% CI –0.0043 to –0.0007,  $P = 0.04$ ) less Gal-3. In women, VO<sub>2</sub>peak ( $\beta$  –0.2046 95% CI –0.6541 to 0.2449,  $P = 0.37$ ) and VO<sub>2</sub>peak adjusted for lean mass ( $\beta$  –0.0019 95% CI –0.0421 to –0.0050,  $P = 0.12$ ) were not related with Gal-3, whereas a 1 mL/min/kg higher VO<sub>2</sub>peak adjusted for body weight was significantly associated with a –0.0064 ng/mL lower Gal-3 (95% CI –0.0092 to –0.0035,  $P < 0.01$ ). There were no differences between pre-menopausal and post-menopausal women.

**Conclusions** VO<sub>2</sub>peak was associated with Gal-3 only in men, but VO<sub>2</sub>peak adjusted for body weight in women and men. Our results suggest that the adverse consequences of low CRF may be mediated by Gal-3. Further research is needed to understand the sex-specific association between CRF and Gal-3 and whether they are clinically relevant.

**Keywords** Cardiorespiratory fitness; Galectin; Epidemiology

Received: 29 April 2022; Revised: 22 August 2022; Accepted: 4 September 2022

\*Correspondence to: Martin Bahls, PhD, Department of Internal Medicine B, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Str., 17475 Greifswald, Germany. Phone: +49 383444 8680 647; Fax: +49 383444 8680 502. Email: martin.bahls@uni-greifswald.de

## Introduction

Cardiovascular diseases are considered the most common cause of death worldwide.<sup>1,2</sup> Low levels of cardiorespiratory fitness (CRF) are related to a greater risk for cardiovascular diseases, mortality, and morbidity.<sup>3,4</sup> Further, a reduced CRF is a strong predictor of cardiovascular diseases and all-cause mortality.<sup>5</sup>

Galectin-3 (Gal-3) is a member of the lectin family containing a carbohydrate-recognition-binding domain. This domain enables the specific binding of  $\beta$ -galactosides to regulate the activity of glycoproteins. Through this, Gal-3 exerts pleiotropic responses.<sup>6</sup> Gal-3 is secreted by macrophages into the extracellular space where an interaction with cell surface receptors takes place. This induces transmembrane signalling pathways.<sup>7</sup> Gal-3 influences cell proliferation, cell adhesion

and migration, apoptosis, angiogenesis, and especially organ specific and systemic fibrosis.<sup>8</sup> Recent research explores the role of Gal-3 as a prognostic biomarker for organ fibrosis and heart failure.<sup>9</sup> Higher Gal-3 levels are also associated with increased cardiovascular mortality.<sup>10–12</sup> More specifically with regard to heart failure, higher circulating Gal-3 levels were associated with greater mortality in acute and<sup>13</sup> compensated heart failure.<sup>14</sup> Therefore, Gal-3 may serve as an early biomarker for various diseases allowing for earlier prevention measures. The therapeutic use of Gal-3 inhibitors previously demonstrated potential for prevention of cardiovascular diseases.<sup>15–17</sup> Gal-3 inhibitors prevent cardiac remodelling by interfering with myocardial fibrogenesis attenuating myocardial fibrosis, left ventricular dysfunction, and potentially heart failure.<sup>18</sup> Interestingly, potentially sex-specific effects of Gal-3 have been suggested due to greater adipose tissue in women. In the general population, therefore, Gal-3 levels are higher in women compared with men. Albeit, this is not true in patients with heart failure.<sup>19</sup> If sex modifies the association of Gal-3 and cardiovascular endpoints is yet to be determined.

Whether low CRF is related with Gal-3 is unclear. The objective of this study was to explore the association of CRF with Gal-3 in a large sample from the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0). Parameters for CRF were peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ),  $VO_{2peak}$  per kg body weight ( $VO_{2peak}/kg$ ), and  $VO_{2peak}$  per kg lean mass ( $VO_{2peak}/lean\ mass$ ).

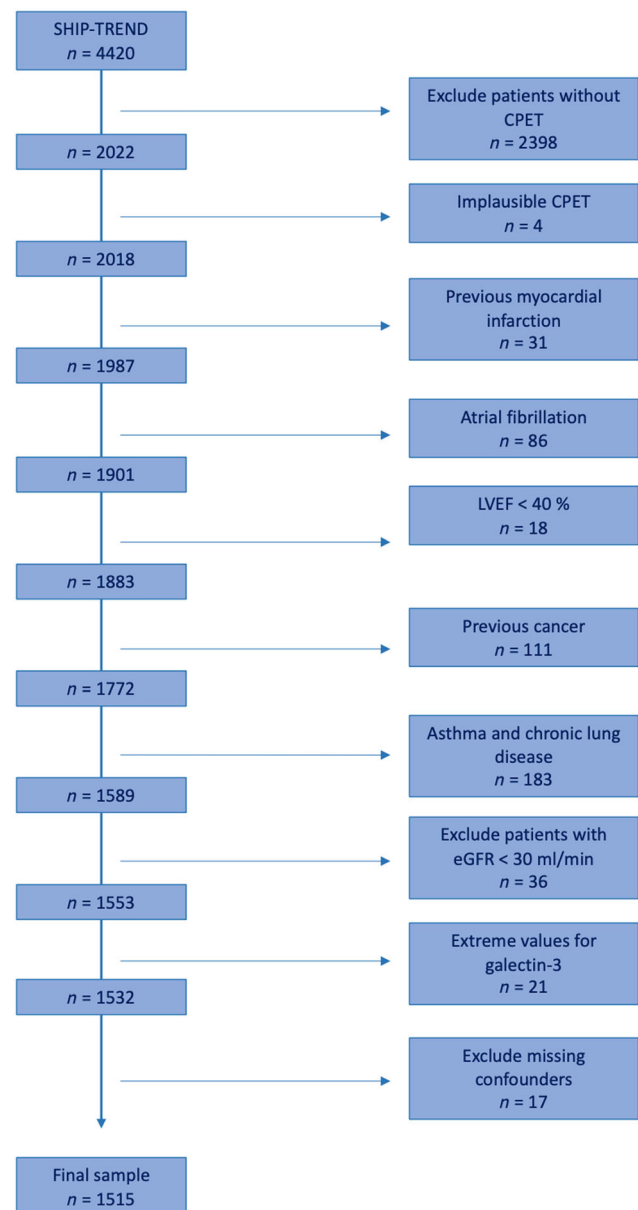
## Methods

### Study design and participants

We used data of the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0) from Northeast Germany. Recruitment strategy and study design have been reported elsewhere.<sup>20</sup> Briefly, SHIP-TREND-0 was carried out between 2008 and 2012. A stratified random sample of 8826 individuals aged 20–79 years was drawn from population registries. A total of 4420 individuals participated in the baseline examination. The study was approved by the ethics committee of the University of Greifswald and complies with the Declaration of Helsinki. All study participants provided informed written consent prior to participation.

Initially all subjects who chose to participate in cardiopulmonary exercise testing (CPET) were included. Individuals with left ventricular ejection fraction (LVEF) <40% ( $n = 18$ ), previous myocardial infarction ( $n = 31$ ), atrial fibrillation ( $n = 86$ ), chronic lung disease ( $n = 183$ ), severe renal disease (estimated glomerular filtration rate [eGFR] < 30 mL/min/ $mm^2$ ) ( $n = 36$ ), a history of cancer ( $n = 111$ ), and extreme values for Gal-3 (<1st percentile; >99th percentile) ( $n = 21$ ) were excluded (*Figure 1*).

**Figure 1** Flow chart of the analysis sample.



### Interview and medical and laboratory examination

Data on age, sex, and medical histories were obtained by standardized computer-assisted personal interviews. All participants underwent an extensive standardized medical examination. Anthropometric measurements included height and weight based on recommendations of the World Health Organization (WHO). Body mass index (BMI) was calculated by dividing weight (kg) by height (m) to the square. A non-fasting venous blood sample was drawn from all subjects

in supine position (between 7 a.m. and 1 p.m.). Samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  in the Integrated Research Biobank (Liconic, Liechtenstein) of the University Medicine of Greifswald<sup>21</sup> and were used in accordance with its regulations. Plasma Gal-3 concentrations were determined using a quantitative sandwich enzyme immunoassay (R&D Systems, Abingdon, UK). The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated according to Levey *et al.* [ $\text{eGFR} = 186 \times (\text{plasma creatinine concentration} \times 0.0113118)^{-1.154} \times \text{age}^{-0.203}$ ] multiplied by 0.742 for female subjects and expressed as  $\text{mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$ .<sup>22</sup> Menopause status was assessed with a questionnaire regarding absence of menorrhoea. Diabetes mellitus was defined as a glycosylated haemoglobin A1c level  $>6.5\%$ , anti-diabetic medication [anatomic, therapeutic, and chemical (ATC) code: A10] or as self-reported based on the question of whether a physician had ever diagnosed diabetes mellitus. Systolic and diastolic blood pressures were assessed after a resting period of 5 min in a sitting position on the right arm. With 3-min rest in between, the blood pressure measurements were taken three times. The average of the second and third measurements is reported. Trained and certified staff used a digital blood pressure monitor (HEM-750CP, Omron Corporation, Tokyo, Japan). Hypertensive patients were identified by either self-reported antihypertensive medication (ATC: C02, C03, C07, C08, and C09) or a systolic blood pressure above 140 mmHg or a diastolic value of more than 90 mmHg. Two-dimensional, M-Mode echocardiography was performed using the Vivid-I system (GE Medical Systems, Waukesha, WI, USA) as described in detail elsewhere.<sup>20</sup> Measurement of the LVEF was performed according to the guidelines of the American Society of Echocardiography.<sup>23</sup>

## Exercise testing

CRF parameters were measured using standardized CPET on a bicycle ergometer (Ergoselect 100, Ergoline, Bitz, Germany) according to a modified Jones protocol.<sup>24,25</sup> In short, 3 min of rest was followed by 1 min of unloaded cycling (20 W) at 60 rpm. Afterwards, the workload was increased in steps of 16 W every minute. Prior to the test, subjects were encouraged to reach maximal exhaustion, whereas no encouragement was provided during exercise. Exercise testing was terminated by the subject due to exhaustion or by the attending physician due to ECG abnormalities.

## Gas exchange variables

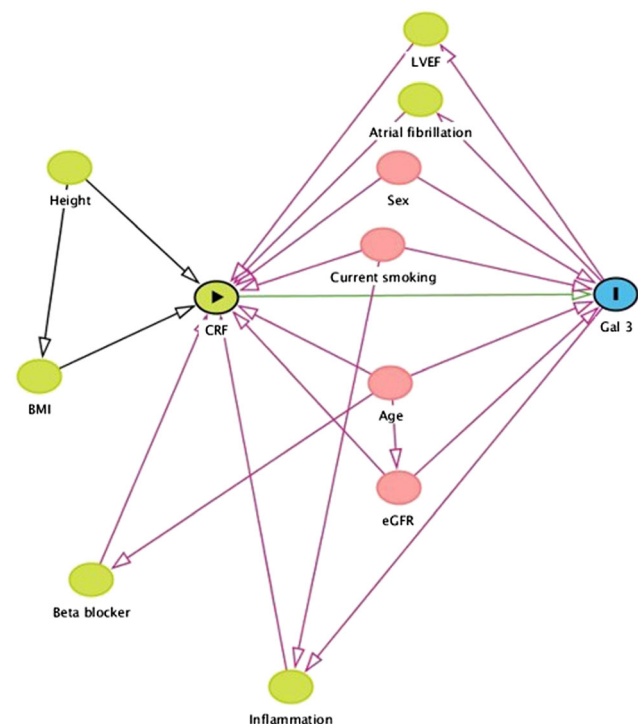
During CPET, breath-by-breath gas exchanges were measured by using an Oxycon Pro with a Rudolf's mask (JÄGER/VIASYS Healthcare System, Hoechberg, Germany). The following parameters were assessed: tidal volume (VE), oxygen uptake

( $\text{VO}_2$ ), and carbon dioxide uptake ( $\text{VCO}_2$ ). Furthermore, CPET is coupled continuously with pulse oximetry, blood pressure, and electrocardiogram. The  $\text{VO}_2$  peak was defined as the highest 10 s average of  $\text{VO}_2$  during late exercise or early recovery.

## Statistics

Age-specific  $\text{VO}_2$  peak quartiles are used to describe the male and female study population, respectively. For the age-specific quartiles, we stratified the study population by 10-year age strata and calculated the quartiles for each stratum. Continuous data are presented as median (25th quartile; 75th quartile). Nominal data are given as percentages. The response variable was CRF, whereas the outcome was Gal-3. Sex-specific linear regression models were used to relate CRF parameters and serum Gal-3. All models were adjusted for age, current smoking, and eGFR (Figure 2). The normality and homoscedasticity of residuals were assessed using histograms, kernel density plots, Q-Q plots, and residuals-vs.-fitted plots. Potential non-linear associations were tested with restricted cubic splines.<sup>27</sup> To assess whether the observed sex differences were related to menopause status, a sensitivity analysis that stratified female study participants

**Figure 2** Directed acyclic graph for the potential association between cardio-respiratory fitness and galectin-3. BMI, body mass index; CRF, cardio-respiratory fitness; eGFR, estimated glomerular filtration rate; Gal-3, galectin 3; LVEF, left ventricular ejection fraction.<sup>26</sup>



based on their menopause status was performed. All the calculations were done in SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Statistical significance was defined as  $P < 0.05$ .

## Results

### General characteristics

A total of 1515 participants with a median age of 49 (IQR: 39–59 years, male 48%) were included in the analysis. The population description according to  $VO_2$ peak sex-specific and age-specific quartiles for men and women are presented in *Tables 1* and *2*, respectively. Study participants with low  $VO_2$ peak showed significantly greater levels of physical inactivity, had a greater BMI, and smoked more often independent of sex. In addition, higher  $VO_2$ peak was also related to more lean mass. Differences in  $VO_2$ peak were not related to hypertension, eGFR, or metabolic syndrome. In men,  $VO_2$ peak was not correlated to fat mass, whereas higher  $VO_2$ peak levels were associated with greater fat mass in women. Furthermore, plasma Gal-3 levels in women were generally higher than in men.

### The association between CRF and Gal-3

The results of the linear regression analysis are shown in *Table 3*. In men,  $VO_2$ peak was inversely associated with Gal-3. Specifically, a 1 L/min greater  $VO_2$ peak was significantly related to 0.50 ng/mL (95% CI -0.8068 to -0.1938,  $P < 0.01$ ) less Gal-3. Similarly, a 1 mL/min/kg higher  $VO_2$ peak adjusted for body weight in males was associated to -0.0286 ng/mL (95% CI -0.0052 to -0.0005,  $P = 0.02$ ) less Gal-3. When  $VO_2$ peak was adjusted for lean mass one mL/kg/min more was correlated with a -0.0022 ng/mL (95% CI -0.0043 to -0.0007,  $P = 0.04$ ) lower Gal-3. With regard to workload, a 1 W greater resistance was associated with -0.0078 ng/mL (95% CI -0.1174 to -0.0038,  $P < 0.01$ ) less Gal-3. When workload was adjusted for body weight, a 1 W per kg greater was related with 0.3983 ng/mL (95% CI -0.6920 to -0.1046,  $P < 0.01$ ) less Gal-3.

We found no significant association of  $VO_2$ peak ( $\beta$  -0.2046 95% CI -0.6541 to 0.2449,  $P = 0.37$ ) and  $VO_2$ peak adjusted for lean mass ( $\beta$  -0.0019 95% CI -0.0421 to 0.0050,  $P = 0.12$ ) with Gal-3 in women. Contrary, a 1 mL/min/kg higher  $VO_2$ peak adjusted for body weight was significantly inversely associated with a -0.0064 ng/mL lower Gal-3 (95% CI -0.0092 to -0.0035,  $P < 0.01$ ). With respect to the maximum power output a 1 W higher resistance was associated with a -0.0049 ng/mL less Gal-3 (95% CI -0.0011 to 0.0007,  $P = 0.09$ ). But when normalized for body weight, a 1 W higher resistance adjusted for body weight was

related to a 0.8718 ng/mL (95% CI -1.2145 to -0.5292,  $P < 0.01$ ).

### Effect of menopause on the association between CRF and Gal-3

The results of the linear regression analysis for the association between CRF and Gal-3 in women stratified by menopause status are presented in *Table 4*. Overall, 367 women were pre-menopause and 421 were post-menopause. In pre-menopausal women, a 1 L for minute higher  $VO_2$ peak was not related to Gal-3 ( $\beta$  0.3737 95% CI -0.5205 to 0.5950,  $P = 0.90$ ). When  $VO_2$ peak was adjusted for body weight a 1 mL/min/kg higher CRF was related to a -0.0640 ng/mL lower Gal-3 (95% CI -0.0099 to -0.0293,  $P < 0.01$ ). Adjusted of  $VO_2$ peak for lean mass in pre-menopausal women resulted in a non-significant relationship between CRF and Gal-3 ( $\beta$  -0.0194 95% CI -0.0049 to 0.0103,  $P = 0.20$ ). In these women, maximal workload was also not related to Gal-3 ( $\beta$  -0.0021 95% CI -0.0095 to 0.0053,  $P = 0.58$ ), whereas adjusted workload for body weight was significantly associated with a -0.9412 ng/mL lower Gal-3 (95% CI -1.3733 to -0.5090,  $P < 0.01$ ).

In post-menopausal women  $VO_2$ peak was not associated with Gal-3 ( $\beta$  -0.2095 95% CI -0.9331–0.5140,  $P = 0.57$ ). A 1 mL/kg/min higher  $VO_2$ peak adjusted for body weight was related to a -0.0460 ng/mL lower Gal-3 (95% CI -0.0927 to 0.009,  $P = 0.05$ ). Adjustment for lean mass nullified this association ( $\beta$  -0.0054 95% CI -0.0420 to 0.0313,  $P = 0.77$ ). Maximal workload was not related to Gal-3 ( $\beta$  -0.0036 95% CI -0.0012 to 0.0050,  $P = 0.41$ ). A 1 W/kg higher workload corrected for body weight was significantly associated with a -0.5748 ng/mL (95% CI -1.1125 to -0.0372,  $P = 0.04$ ) less Gal-3.

## Discussion

Several studies have demonstrated a significant association of Gal-3 and cardiovascular risk factors. However, very few studies have assessed the relationship between CRF and Gal-3. Most studies concentrated on subjects with overt diseases like heart failure.<sup>8–12</sup> Other studies included patients with pulmonary,<sup>16,28,29</sup> kidney,<sup>15</sup> or liver fibrosis<sup>14</sup> as well as with an increased risk for chronic kidney diseases.<sup>15</sup> In contrast, we used data from a community-based cohort and excluded subjects with several manifest diseases to assess the relationship between CRF and Gal-3. After adjustment for body weight and other confounding factors, we found an inverse association between CRF and Gal-3 in men and women. We also report that the observed associations in women are independent of menopause status. Interestingly, a previous

Table 1 Population descriptions according to age-specific and sex-specific VO<sub>2</sub> peak quartiles for males

	VO <sub>2</sub> peak quartiles				P for trend
	I	II	III	IV	
	1687–2200	2100–2633	2363–2968	2813–3447	
n	178	177	188	184	
Age (years)	49 (39; 59)	48 (39; 59)	50 (40; 60)	49 (39; 59)	0.91
Galectin-3 (ng/mL)	7.31 (5.37; 9.07)	7.02 (5.60; 8.49)	7.02 (5.66; 8.30)	6.63 (5.32; 7.96)	0.12
Height (cm)	175 (170; 180)	176 (172; 180)	177 (174; 181)	180 (175; 184)	<.01
Weight (kg)	81.9 (75.1; 91.5)	82.4 (76.9; 92.7)	86.8 (79.8; 95.6)	88.9 (81.6; 98.6)	<.01
Waist circumference (cm)	93.0 (86.2; 102.3)	93.0 (85.6; 99.4)	94.1 (87.0; 104.0)	94.0 (86.6; 101.5)	0.59
Hip circumference (cm)	99.5 (95.5; 103.9)	99.5 (94.5; 104.0)	100.8 (96.6; 106.2)	101.1 (97.3; 107.8)	<.01
Risk factors	89.9 (88.7; 110.7)	99.4 (91.0; 109.2)	98.9 (91.1; 106.3)	97.6 (88.9; 108.4)	0.64
eGFR (mL/min/1.72 m <sup>2</sup> )	47.46	52.54	49.20	40.76	0.15
Hypertension (%)	8.99	7.91	7.98	5.98	0.75
Diabetes (%)	35.84	26.86	32.80	22.95	0.03
Metabolic syndrome (%)	44.38	24.86	26.06	16.30	<.01
Physical inactivity (%)	27.0 (24.5; 29.5)	27.1 (24.8; 29.4)	27.7 (25.5; 30.7)	27.8 (25.3; 30.4)	0.04
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	5.3 (4.9; 5.7)	5.3 (5.0; 5.6)	5.3 (5.0; 5.5)	5.2 (4.9; 5.6)	0.30
HbA1c (%)	21.91	28.81	29.79	44.57	<.01
Smoking status	36.52	46.33	49.47	46.20	<.01
Non-smoker (%)	41.57	24.86	20.74	9.24	<.01
Ex-smoker (%)	19.2 (15.2; 23.8)	19.3 (15.6; 24.4)	20.8 (15.5; 25.4)	19.7 (15.6; 24.8)	0.42
Smoker (%)	63.3 (58.2; 68.4)	64.3 (59.7; 70.6)	67.4 (63.0; 72.5)	69.5 (64.8; 74.7)	<.01
BIA	164 (132; 180)	196 (164; 228)	212 (180; 244)	244 (212; 276)	<.01
CPET	154 (137; 171)	166 (150; 181)	166 (147; 179)	171 (162; 181)	<.01
HR max	900 (850; 1,000)	1,100 (1,000; 1,250)	1,200 (1,100; 1,350)	1,400 (1,300; 1,550)	<.01
VO <sub>2</sub> @AT (mL/min)	35 (31; 40)	35 (31; 38)	35 (31; 38)	35 (31; 38)	0.28
VE/CO <sub>2</sub>	27 (25; 30)	26 (24; 28)	25 (24; 28)	25 (23; 27)	<.01
VE/CO <sub>2</sub> @AT	30 (27; 33)	30 (27; 29)	30 (26; 32)	30 (27; 33)	0.32
VE/CO <sub>2</sub> max	28 (25; 30)	27 (24; 29)	26 (24; 29)	26 (24; 28)	<.01
VE/CO <sub>2</sub> slope					

BIA, body impedance analysis; BMI, body mass index; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HR max, maximal heart rate; VO<sub>2</sub>@AT, maximal oxygen consumption at the anaerobic threshold.

Values presented as median (25th and 75th percentile) for continuous variables. For categorical variables, percentage is provided.

Table 2 Population descriptions according to age-specific and sex-specific VO<sub>2</sub> peak quartiles for females

	VO <sub>2</sub> peak quartiles				P for trend
	I 1104–1373	II 1390–1650	III 1559–1878	IV 1882–2200	
n	195	194	198	201	
Age (years)	49 (39; 60)	48 (39; 59)	49 (39; 60)	49 (39; 60)	0.98
Galectin-3 (ng/mL)	7.34 (6.01; 9.32)	7.33 (5.86; 8.83)	7.78 (6.14; 9.05)	7.50 (6.24; 9.15)	0.52
Height (cm)	163 (158; 167)	164 (159; 168)	165 (161; 169)	167 (163; 171)	<.01
Weight (kg)	64.8 (57.4; 73.6)	68.5 (62.3; 75.2)	73.0 (63.6; 80.7)	74.7 (66.4; 83.0)	<.01
Waist circumference (cm)	78.5 (71.7; 87.5)	79.5 (72.5; 87.7)	81.6 (75.0; 91)	82.8 (75.1; 92.0)	<.01
Hip circumference (cm)	96.0 (90.8; 104.4)	98.0 (93.5; 106.5)	101.5 (94.0; 108.0)	101.5 (94.0; 108.0)	<.01
Risk factors	98.5 (89.1; 108.5)	99.1 (87.0; 109.1)	97.4 (86.4; 106.4)	97.3 (84.9; 107.4)	0.42
eGFR (mL/min/1.72 mm <sup>2</sup> )	33.33	29.53	33.84	30.35	0.74
Hypertension (%)	4.62	7.22	8.08	2.99	0.11
Diabetes (%)	15.38	15.71	16.92	11.50	0.46
Metabolic syndrome (%)	40.51	26.29	24.75	12.94	<.01
Physical inactivity (%)	24.3 (21.8; 27.8)	25.7 (23.1; 28.1)	26.4 (23.4; 30.1)	26.9 (24.0; 30.6)	<.01
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	5.1 (4.8; 5.4)	5.1 (4.8; 5.4)	5.2 (4.8; 5.6)	5.2 (4.8; 5.5)	0.28
HbA1c (%)	40.00	48.45	47.98	48.26	0.06
Non-smoker (%)	28.72	30.93	32.83	32.84	0.06
Ex-smoker (%)	31.28	20.62	19.19	18.91	0.06
Smoker (%)	20.7 (15.4; 26.6)	22.7 (17.6; 27.1)	24.9 (18.3; 31.4)	25.8 (19.7; 31.4)	<.01
Fat mass (kg)	44.1 (41.0; 47.7)	46.5 (43.6; 48.5)	47.2 (44.5; 51.5)	49.3 (46.5; 52.6)	<.01
Lean mass (kg)	116 (84; 116)	132 (116; 132)	148 (116; 148)	164 (148; 180)	<.01
Watt max	155 (133; 169)	160 (142; 173)	164 (146; 173)	164 (151; 176)	<.01
HR max	700 (650; 800)	800 (750; 900)	900 (800; 950)	1,050 (900; 1,200)	<.01
VO <sub>2</sub> @AT (mL/min)	35 (31; 38)	35 (32; 40)	35 (31; 37)	35 (31; 38)	0.18
VE/CO <sub>2</sub>	28 (25; 30)	27 (24; 29)	26 (25; 28)	26 (24; 28)	<.01
VE/CO <sub>2</sub> @AT	30 (27; 33)	29 (26; 33)	29 (26; 32)	29 (26; 31)	0.02
VE/CO <sub>2</sub> max	28 (25; 30)	27 (25; 29)	27 (24; 28)	26 (24; 28)	<.01
VE/CO <sub>2</sub> slope					

BIA, body impedance analysis; BMI, body mass index; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HR max, maximal heart rate; VO<sub>2</sub>@AT, maximal oxygen consumption at the anaerobic threshold.

Values presented as median (25th and 75th percentile) for continuous variables. For categorical variables, percentage is provided.

**Table 3** Association of cardiorespiratory fitness with Galectin-3 levels for males and females

	Men			Women		
	Estimate	95% CI	P value	Estimate	95% CI	P value
VO <sub>2</sub> peak (L/min)	-0.5003	-0.8068; -0.1938	<.01	-0.2046	-0.6541; 0.2449	0.37
VO <sub>2</sub> peak/kg (mL/min/kg)	-0.0286	-0.0052; -0.0005	0.02	-0.0064	-0.0092; -0.0035	<.01
VO <sub>2</sub> peak/lean mass (mL/min/kg)	-0.0022	-0.0043; -0.0007	0.04	-0.0019	-0.0421; 0.0050	0.12
Watt max (W)	-0.0078	-0.1174; -0.0038	<.01	-0.0049	-0.0011; 0.0007	0.09
Watt max/kg (W/kg)	-0.3983	-0.6920; -0.1046	<.01	-0.8718	-1.2145; -0.5292	<.01

**Table 4** Association of cardiorespiratory fitness with Galectin-3 levels for pre-menopausal and post-menopausal women

	Pre-menopause			Post-menopause		
	Estimate	95% CI	P value	Estimate	95% CI	P value
VO <sub>2</sub> peak (L/min)	0.3737	-0.5202; 0.5950	0.90	-0.2095	-0.9331; 0.5140	0.57
VO <sub>2</sub> peak/kg (mL/min/kg)	-0.0640	-0.0099; -0.0293	<.01	-0.0460	-0.0927; 0.0009	0.05
VO <sub>2</sub> peak/lean mass (mL/min/kg)	-0.0194	-0.0049; 0.0103	0.20	-0.0054	-0.0420; 0.0313	0.77
Watt max (W)	-0.0021	-0.0095; 0.0053	0.58	-0.0036	-0.0012; 0.0050	0.41
Watt max/kg (W/kg)	-0.9412	-1.3733; -0.5090	<.01	-0.5748	-1.1125; -0.0372	0.04

randomized controlled clinical trial in post-menopausal women showed that high-intensity interval training significantly reduced whole blood Gal-3 gene expression compared with moderate continuous exercise training.<sup>30</sup> However, in both exercise groups, Gal-3 decreased compared with baseline, whereas Gal-3 increased in the control group. Hence, lower Gal-3 concentrations due to exercise training could be a potential mechanism for the anti-fibrotic effects of exercise. In the baseline characteristics of the HF-Action trial, lower CRF was related to higher Gal-3.<sup>31</sup> In addition to the previously mentioned positive effects of exercise training, the findings of the HF-Action trial could highlight an additional mechanism for the adverse fibrotic effects of low CRF potentially mediated by Gal-3. Unfortunately, whether exercise induced changes in VO<sub>2</sub>peak are related to Gal-3 has not been reported for the HF-Action trial. In endurance athletes, which usually have a higher CRF compared with the general population, Gal-3 levels are within normal range but higher than in healthy sedentary control subjects.<sup>32</sup> This agrees with the notion that long-term high-level exercise training can increase the risk for cardiac fibrosis. In patients with chronic heart failure, exercise training increased CRF, but this increase was not associated with changes in Gal-3.<sup>33</sup> The authors even concluded that the inconsistent independent associations between CRF and Gal-3 limit the incremental utility for patient monitoring. Overall, our results and previous reports potentially support the notion of Gal-3 as a biomarker for CRF. However, this relationship may be influenced by sex, training, and disease status.

The sex-specific associations between CRF and Gal-3 are especially intriguing. A previous study also reported sex-related differences in associations of Gal-3 with incident heart failure.<sup>34</sup> The analysis used data from four

community-based longitudinal cohorts with 22 756 participants. Plasma concentrations of Gal-3 were more strongly associated with heart failure in women than in men. Another study investigated the relationship between the severity of sleep apnoea and plasma levels of Gal-3, because sleep apnoea is associated with increased risk for cardiovascular diseases.<sup>35</sup> The cohort of the cross-sectional study included 471 Mexican-Americans. They found significantly higher Gal-3 levels in women with moderate to severe sleep apnoea, but not in men. We show that CRF, independent of parameter, is inversely associated with Gal-3 in men, whereas in women only adjustment for body weight revealed significantly inverse associations between CRF and Gal-3. Hence, our results further support that Gal-3 is potentially a sex-specific marker with regard to cardiovascular risk factors like CRF and sleep apnoea. A specific biological mechanism underlying our observations is unclear. There are several differences between women and men that may influence the identified associations like body composition, fat distribution, muscle composition, or sex hormones.<sup>36</sup> Further, we found that Gal-3 levels in women are generally higher than in men. Although one may suggest that sex hormones could play a role in the sex-specific associations of Gal-3 and cardiovascular outcomes, we found no evidence for differences between pre-menopausal and post-menopausal women. Overall, the sex-specific associations between cardiovascular risk and Gal-3 identified by others<sup>34</sup> and ourselves should be further explored in the future.

As mentioned above, Gal-3 is generally considered a marker for organ-specific as well as systemic fibrosis. More recent evidence suggests that sex-specific differences with regard to systemic and organ-specific fibrosis are present.<sup>37</sup> There is rather strong evidence that the underlying biology

for this observation is driven by sex hormones. Although we also found sex-specific associations between CRF and the fibrosis marker Gal-3, we found no evidence that this observation was due to menopause status because we found no differences between pre-menopausal and post-menopausal women. Exercise is well known to increase CRF and thereby improve cardiac health. The mechanisms underlying these observational findings have been supported by animal models.<sup>38</sup> However, a large drawback is that most research was carried out in male animals. Hence, future research should employ more female animals to improve our understanding of the potentially sex-related importance of Gal-3.

The strengths of our study design are the large sample size ( $n = 1515$ ) and the population-based design. This may allow drawing inference for the general population from our results. In addition, we employed a highly standardized quality control during the course of the study. However, the results of this study need to be interpreted in the context of some limitations. Based on the cross-sectional analysis of observational data, we cannot conclusively determine the direction of the investigated association. Another limitation is that the results are not directly applicable to other ethnicities, because SHIP consists mainly of Caucasians. Finally, we cannot exclude possible additional residual confounding that could influence the results.

In conclusion, we report that CRF is inversely associated with Gal-3 in a sample from the general population, excluding several manifest diseases. In men, absolute values of  $VO_2$ peak were inversely related to Gal-3, although body weight normalized  $VO_2$ peak was inversely associated with Gal-3 independent of sex. Our findings may be of interest for preventive cardiology. Specifically, exercise training is well known to improve  $VO_2$ peak as well as reduce fibrosis.<sup>38</sup> Our results suggest that lower Gal-3 concentrations could be a potential mechanism underlying this observation.

Further research is required to confirm and fully understand potential sex-specific associations and their underlying mechanisms between CRF and Gal-3. Overall, our results sug-

gest that Gal-3 deserves further examination as a potentially sex-specific cardiovascular risk factor.

## Acknowledgements

The contribution to data collection made by field workers, study physicians, ultrasound technicians, interviewers, and laboratory workers is gratefully acknowledged. The authors are also appreciative of the important support of computer scientists, medical documentarists, and administration staff. They also thank former and current members of the Data Safety and Monitoring Committee for valuable comments and advice. Last, but not least, we thank all study participants whose personal dedication and commitment have made this project possible.

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

## Conflict of interest

None declared.

## Funding

SHIP is part of the Community Medicine of the University of Greifswald, which is funded by grants from the German Federal Ministry of Education and Research for SHIP (BMBF grant no. 01ZZ96030 and 01ZZ0701) and German Asthma and COPD Network (COSYCONET; BMBF grant no. 01GI0883); the Ministry for Education, Research, and Cultural Affairs; and the Ministry for Social Affairs of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. There are no relationships with industry.

## References

- Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Dellings FN, Djousse L, Elkind MSV, Ferguson JF, Fornage M, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Kwan TW, Lackland DT, Lewis TT, Lichtman JH, Longenecker CT, Loop MS, Lutsey PL, Martin SS, Matsushita K, Moran AE, Mussolino ME, Perak AM, Rosamond WD, Roth GA, Sampson UKA, Satou GM, Schroeder EB, Shah SH, Shay CM, Spartano NL, Stokes A, Tirschwell DL, VanWagner LB, Tsao CW. On behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2020 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2020; **141**: e139–e596.
- Timmis A, Townsend N, Gale CP, Torbica A, Lettino M, Petersen SE, Mossialos EA, Maggioni AP, Kazakiewicz D, May HT, de Smedt D, Flather M, Zuhlke L, Beltrame JF, Huculeci R, Tavazzi L, Hindricks G, Bax J, Casadei B, Achenbach S, Wright L, Vardas P, European Society of Cardiology, Mimosza L, Artan G, Aurel D, Chettibi M, Hammoudi N, Sisakian H, Pepoyan S, Metzler B, Siostrzonek P, Weidinger F, Jahangirov T, Aliyev F, Rustamova Y, Manak N, Mrochak A, Lancellotti P, Pasquet A, Claeys M, Kušljugić Z, Dizdarević Hudić L, Smajić E, Tokmakova MP, Gatzov PM, Milicic D, Bergovec M, Christou C, Moustra HH, Christodoulides T, Linhart A, Taborsky M, Hansen HS, Holmvang L, Kristensen SD, Abdelhamid M, Shokry K, Kampus P, Viigimaa M, Ryödi E, Niemelä M,

- Rissanen TT, le Heuzey JY, Gilard M, Aladashvili A, Gamkrelidze A, Kereselidze M, Zeiher A, Katus H, Bestehorn K, Tsioufis C, Goudevenos J, Csanádi Z, Becker D, Tóth K, Jóna Hrafnkelsdóttir Þ, Crowley J, Kearney P, Dalton B, Zahger D, Wolak A, Gabrielli D, Indolfi C, Urbinati S, Imantayeva G, Berkinbayev S, Bajraktari G, Ahmeti A, Berisha G, Erkin M, Saamay A, Erglis A, Bajare I, Jegere S, Mohammed M, Sarkis A, Saadeh G, Zvirblyte R, Sakalyte G, Slapikas R, Ellafi K, el Ghamari F, Banu C, Beissel J, Felice T, Buttigieg SC, Xuereb RG, Popovici M, Boskovic A, Rabrenovic M, Ztot S, Abir-Khalil S, van Rossum AC, Mulder BJM, Elsenoorn MW, Srbinovska-Kostovska E, Kostov J, Marjan B, Steigen T, Mjølstad OC, Ponikowski P, Witkowski A, Jankowski P, Gil VM, Mimoso J, Baptista S, Vinereanu D, Chioncel O, Popescu BA, Shlyakhto E, Oganov R, Foscoli M, Zavatta M, Dikic AD, Beleslin B, Radovanovic MR, Hlívk P, Hatala R, Kaliská G, Kenda M, Frasz Z, Anguita M, Cequier A, Muñiz J, James S, Johansson B, Platonov P, Zellweger MJ, Pedrazzini GB, Carballo D, Shebli HE, Kabbani S, Abid L, Addad F, Bozkurt E, Kayıkçıoğlu M, Erol MK, Kovalenko V, Nesukay E, Wragg A, Ludman P, Ray S, Kurbanov R, Boateng D, Daval G, de Benito Rubio V, Sebastiao D, de Courtney PT, Bardinet I. European society of cardiology: Cardiovascular disease statistics 2019. *Eur Heart J*. 2020; **41**: 12–85.
3. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Böck M, Benetos A, Biffi A, Boavida JM, Capodanno D, Cosyns B. 2021 ESC guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Prev Cardiol*. 2021; **42**: 3227–3337.
  4. Kokkinos PF, Faselis C, Myers J, Narayan P, Sui X, Zhang J, Lavie CJ, Moore H, Karasik P, Fletcher R. Cardiorespiratory fitness and incidence of major adverse cardiovascular events in US veterans: A cohort study. *Mayo Clin Proc*. 2017; **92**: 39–48.
  5. Katsimpris A, Jürgens C, Lüdtke L, Martin B, Ittermann T, Gläser S, Dörr M, Ewert R, Volaklis K, Felix SB, Tost F, Völzke H, Meisinger C, Baumeister SE. Association between cardiorespiratory fitness and handgrip strength with age-related macular degeneration: A population-based study. *Br J Ophthalmol*. 2020; **105**: 1127–1132.
  6. Du XJ, Zhao WB, Nguyen MN, Lu Q, Kiriazis H.  $\beta$ -Adrenoceptor activation affects galectin-3 as a biomarker and therapeutic target in heart disease. *Br J Pharmacol*. 2019; **176**: 2449–2464.
  7. Amin HZ, Amin LZ, Wijaya IP. Galectin-3: A novel biomarker for the prognosis of heart failure. *Clujul Med*. 2017; **90**: 129–132.
  8. Oikonomou E, Vogiatzi G, Tsalamandris S, Mourouzis K, Siasos G, Lazaros G, Skotsimara G, Marinou G, Vavuranakis M, Tousoulis D. Non-natriuretic peptide biomarkers in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *Biomark Med*. 2018; **12**: 783–797.
  9. Zhong X, Qian X, Chen G, Song X. The role of galectin-3 in heart failure and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2019; **46**: 197–203.
  10. Daniels LB, Clopton P, Laughlin GA, Maisel AS, Barrett-Connor E. Galectin-3 is independently associated with cardiovascular mortality in community-dwelling older adults without known cardiovascular disease: The Rancho Bernardo study. *Am Heart J*. 2014; **167**: 674–682.e1.
  11. Ho JE, Liu C, Lyass A, Courchesne P, Pencina MJ, Vasan RS, Larson MG, Levy D. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J Am Coll Cardiol*. 2012; **60**: 1249–1256.
  12. Djoussé L, Matsumoto C, Petrone A, Weir NL, Tsai MY, Gaziano JM. Plasma galectin 3 and heart failure risk in the physicians' health study. *Eur J Heart Fail*. 2014; **16**: 350–354.
  13. van Kimmenade RR, Januzzi JL, Ellinor PT, Sharma UC, Bakker JA, Low AF, Martinez A, Crijsns HJ, MacRae CA, Menheere PP, Pinto YM. Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2006; **48**: 1217–1224.
  14. Lok DJA, van der Meer P, de la Porte PWB-A, Lipsic E, van Wijngaarden J, Hillege HL, van Veldhuisen DJ. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: Data from the DEAL-HF study. *Clin Res Cardiol*. 2010; **99**: 323–328.
  15. Hara A, Niwa M, Noguchi K, Kanayama T, Niwa A, Matsuo M, Tomita H, Tomita H. Galectin-3 as a next-generation biomarker for detecting early stage of various diseases. *Biomolecules*. 2020; **10**: 389.
  16. Slack RJ, Mills R, Mackinnon AC. The therapeutic potential of galectin-3 inhibition in fibrotic disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2021; **130**: 105881.
  17. Blanda V, Bracale UM, Di Taranto MD, Fortunato G. Galectin-3 in cardiovascular diseases. *Int J Mol Sci*. 2020; **21**: 9232.
  18. Yu L, Ruifrok WPT, Meissner M, Bos EM, van Goor H, Sanjabi B, van der Harst P, Pitt B, Goldstein LJ, Koerts JA, van Veldhuisen DJ, Bank RA, van Gilst WH, Silljé HHW, de Boer RA. Genetic and pharmacological inhibition of galectin-3 prevents cardiac remodeling by interfering with myocardial fibrogenesis. *Circ Heart Fail*. 2013 Jan; **6**: 107–117.
  19. Lau ES, Binek A, Parker SJ, Shah SH, Zanni MV, van Eyk JE, Ho JE. Sexual dimorphism in cardiovascular biomarkers: Clinical and research implications. *Circ Res*. 2022; **130**: 578–592.
  20. Volzke H, Alte D, Schmidt CO, Radke D, Lorbeer R, Friedrich N, Aumann N, Lau K, Piontek M, Born G, Havemann C, Ittermann T, Schipf S, Haring R, Baumeister SE, Wallaschofski H, Nauck M, Frick S, Arnold A, Junger M, Mayerle J, Kraft M, Lerch MM, Dörr M, Reffelmann T, Empen K, Felix SB, Obst A, Koch B, Gläser S, Ewert R, Pietze I, Penzel T, Doren M, Rathmann W, Haerting J, Hannemann M, Ropcke J, Schminke U, Jurgens C, Tost F, Rettig R, Kors JA, Ungerer S, Hegenscheid K, Kuhn JP, Kuhn J, Hosten N, Puls R, Henke J, Gloger O, Teumer A, Homuth G, Volker U, Schwahn C, Holtfreter B, Polzer I, Kohlmann T, Grabe HJ, Roszkopf D, Kroemer HK, Kocher T, Biffar R, John U, Hoffmann W. Cohort profile: The study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol*. 2011; **40**: 294–307.
  21. Winter T, Friedrich N, Lamp S, Schäfer C, Schattschneider M, Bollmann S, Brümmer D, Riemann K, Petersmann A, Nauck M. The integrated research biobank of the university medicine Greifswald. *Open J Biosour*. 2020; **7**: 1–6.
  22. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function — Measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med*. 2006; **354**: 2473–2483.
  23. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I, Silverman NH, Tajik AJ. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr*. 1989; **2**: 358–367.
  24. Jones NL, Makrides L, Hitchcock C, Chypchar T, McCartney N. Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. *Am Rev Respir Dis*. 1985; **131**: 700–708.
  25. Koch B, Schäper C, Ittermann T, Spielhagen T, Dörr M, Völzke H, Opitz CF, Ewert R, Gläser S. Reference values for cardiopulmonary exercise testing in healthy volunteers: The SHIP study. *Eur Respir J*. 2009; **33**: 389–397.
  26. Textor J, van der Zander B, Gilthorpe MK, Liskiewicz M, Ellison GTH. Robust causal inference using directed acyclic graphs: The R package 'dagitty'. *Int J Epidemiol*. 2016; **45**(6):1887–1894.
  27. Stone CJ, Koo C-Y. Additive splines in statistics. *Proc Stat Comput Sect*. 1985; 45–48.
  28. Nishi Y, Sano H, Kawashima T, Okada T, Kuroda T, Kikkawa K, Kawashima S, Tanabe M, Goto T, Matsuzawa Y, Matsumura R, Tomioka H, Liu FT, Shirai K. Role of galectin-3 in human pulmonary fibrosis. *Allergol Int*. 2007; **56**: 57–65.

29. Mackinnon AC, Gibbons MA, Farnworth SL, Leffler H, Nilsson UJ, Delaine T, Simpson AJ, Forbes SJ, Hirani N, Gauldie J, Sethi T. Regulation of transforming growth factor- $\beta$ 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; **185**: 537–546.
30. Keyhani D, Tartibian B, Dabiri A, Teixeira AMB. Effect of high-intensity interval training versus moderate-intensity aerobic continuous training on galectin-3 gene expression in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *J Aging Phys Act*. 2020; **1–9**: 987–995.
31. Felker GM, Fiuzat M, Shaw LK, Clare R, Whellan DJ, Bettari L, Shirolkar SC, Donahue M, Kitzman DW, Zannad F, Piña IL, O'Connor CM. Galectin-3 in ambulatory patients with heart failure: Results from the HF-ACTION study. *Circ Heart Fail*. 2012; **5**: 72–78.
32. Hättasch R, Spethmann S, de Boer RA, Ruifrok WPT, Schattke S, Wagner M, Schroeckh S, Durmus T, Schimke I, Sanad W, Baumann G, Borges AC, Knebel F. Galectin-3 increase in endurance athletes. *Eur J Prev Cardiol*. 2014; **21**: 1192–1199.
33. Fudim M, Kelly JP, Jones AD, AbouEzzeddine OF, Ambrosy AP, Greene SJ, Reddy YNV, Anstrom KJ, Alhanti B, Lewis GD, Hernandez AF, Felker GM. Are existing and emerging biomarkers associated with cardiorespiratory fitness in patients with chronic heart failure? *Am Heart J*. 2020; **220**: 97–107.
34. Suthahar N, Lau ES, Blaha MJ, Paniagua SM, Larson MG, Psaty BM, Benjamin EJ, Allison MA, Bartz TM, Januzzi JL Jr, Levy D, Meems LMG, Bakker SJL, Lima JAC, Cushman M, Lee DS, Wang TJ, deFilippi CR, Herrington DM, Nayor M, Vasani RS, Gardin JM, Kizer JR, Bertoni AG, Allen NB, Gansevoort RT, Shah SJ, Gottdiener JS, Ho JE, de Boer RA. Sex-specific associations of cardiovascular risk factors and biomarkers with incident heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2020; **76**: 1455–1465.
35. Singh M, Hanis CL, Redline S, Ballantyne CM, Hamzeh I, Aguilar D. Sleep apnea and galectin-3: Possible sex-specific relationship. *Sleep Breath*. 2019; **23**: 1107–1114.
36. Gerdtts E, Regitz-Zagrosek V. Sex differences in cardiometabolic disorders. *Nat Med*. 2019; **25**: 1657–1666.
37. Garate-Carrillo A, Gonzalez J, Ceballos G, Ramirez-Sanchez I, Villarreal F. Sex related differences in the pathogenesis of organ fibrosis. *Transl Res*. 2020; **222**: 41–55.
38. Kyselovič J, Leddy JJ. Cardiac fibrosis: The beneficial effects of exercise in cardiac fibrosis. *Adv Exp Med Biol*. 2017; **999**: 257–268.