

## Statusartikel

Ugeskr Læger 2020;182:V05200344

# Vaskulær endotelial vækstfaktor-terapi ved iskæmisk hjertesygdom

Abbas Ali Qayyum<sup>1, 2</sup>, Francis Richard Joshi<sup>1</sup>, Lisbeth Drozd Lund<sup>2</sup>, Rebekka Harary Søndergaard<sup>2</sup> & Jens Kastrup<sup>1, 2</sup>

1) Kardiologisk Laboratorium, Rigshospitalet, 2) Kardiologisk Stamcellecenter, Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2020;182:V05200344

### HOVEDBUDSKABER

- Samspillet mellem ilt, hypoksiinducerbar faktor-1 og vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF) er essentielt for overlevelse af celler.
- VEGF har været anvendt i flere kliniske studier hos patienter med iskæmisk hjertesygdom.
- ReGenHeart er et finskinitieret europæisk studie med dansk deltagelse, som rekrutterer patienter med iskæmisk hjertesvigt til VEGF-behandling.

Samspillet mellem ilt og transkriptionsfaktoren hypoksiinducerbar faktor-1 (HIF-1) har været af afgørende betydning for udviklingen af livet på jorden. Det antages, at iltniveauet registreres vha. HIF-1 i alle dyr. Alle celler reagerer på hypoksiske tilstande ved at justere stofskiftet og intracellulær signalering mhp. overlevelse, hvilket bl.a. medfører induktion af cellemigration og angiogenese.

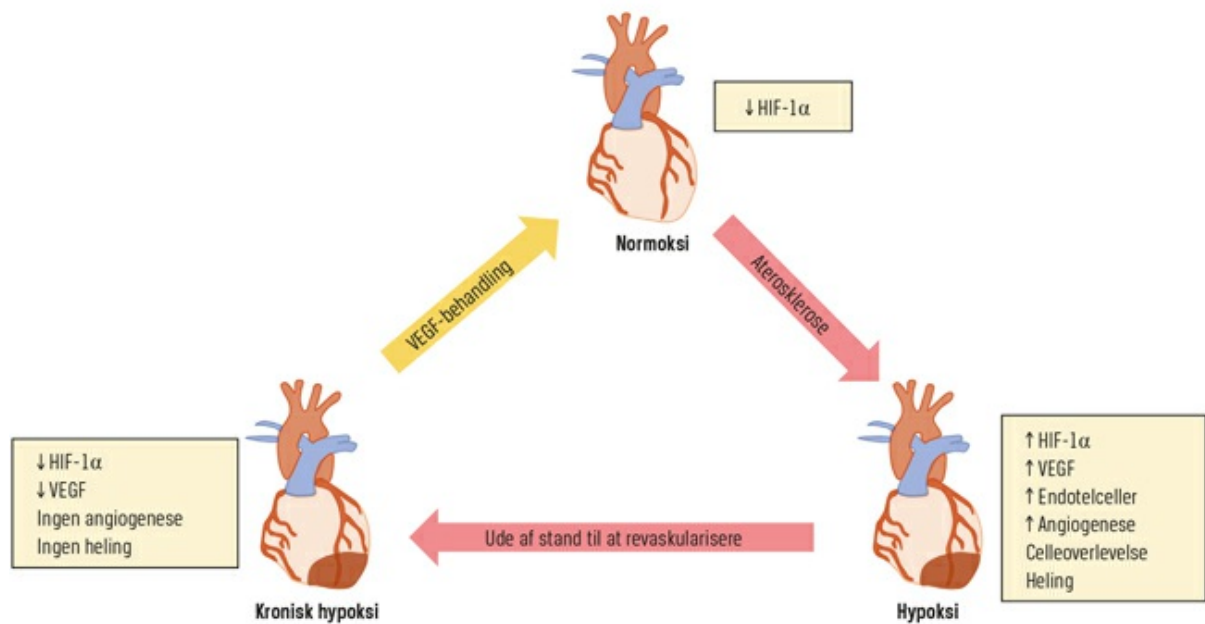
HIF-1 består af to proteiner:  $\alpha$ -protein og  $\beta$ -protein.  $\alpha$ -proteinet regulerer gener, som er involveret i respons til iltkoncentration, mens  $\beta$ -proteinet udtrykkes konstant. Ved normoksi finder ubiquitinmedieret nedbrydning af  $\alpha$ -proteinet sted via proteasomer efter hydroxylering af prolinrester i det iltafhængige nedbrydningsdomæne med prolylhydroxylase (PHD). Ved hypoksi inhiberes PHD-aktiviteten og forhindrer således ubiquitinationering af HIF-1 $\alpha$ , der derefter akkumuleres og translokeres til cellens nucleus. Efter at have dannet en heterodimer med HIF-1 $\beta$  binder den aktive transkriptionsfaktor sig til hypoksiresponselementet i genomet og inducerer derved transkriptionen af gener, som er involveret i glukosemetabolisme og angiogenese, herunder vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF) [1]

Det første medlem og den primære regulator af angiogenese og vaskulær permeabilitet, VEGF-A, blev klonet i 1989 [2, 3]. Fire andre medlemmer i den humane VEGF-familie er siden blevet identificeret: VEGF-B, VEGF-C (også kaldet VEGF-2), VEGF-D<sup>NC</sup> og placentavækstfaktor (PlGF). De fem VEGF-familiemedlemmer findes i flere molekylære former, som har forskellige signaleringskinetikker i forbindelse med angiogenese.

### HYPOKSI OG VASKULÆR ENDOTELIAL VÆKSTFAKTOR I HJERTET

Hypoksi er en vigtig stimulator af (pato)fysiologisk angiogenese, idet HIF-1 igangsætter en lang række proteiner, heriblandt VEGF-A og VEGF-2, som bidrager til rekruttering af endogene endotelceller, proliferering og differentiering af disse til nye blodkar (Figur 1).

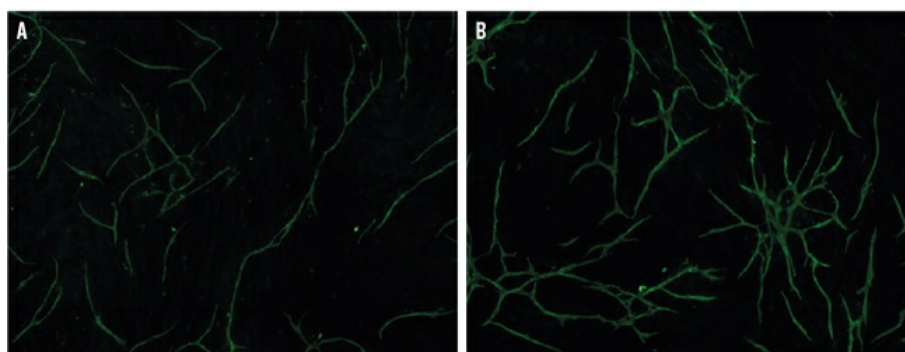
**FIGUR 1 /** Forandringer i hjertet under hypoksi. Ved normoksi nedbrydes hypoksiinducerbar faktor (HIF)-1 $\alpha$  konstant. Aterosklerose fører til hypoksi, hvilket fører til en stigning i koncentrationen af HIF-1 $\alpha$ , som sammen med HIF-1 $\beta$  transporteres til cellekernen, hvor det inducerer produktionen af bl.a. vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF) og derved angiogenese. Desuden finder der cellemigration og sårheling sted. Ved kronisk hypoksi nedreguleres HIF-1 $\alpha$  pga. negativ feedback, og dermed hæmmes også produktionen af VEGF. Således stoppes yderligere angiogenese og sårheling. Ved at behandle patienter med kronisk iskæmi med VEGF forventes stimulering af angiogenese og regenerering af det skadede væv.



I de første 24 timer efter et akut myokardieinfarkt stiger produktionen af HIF-1 i kardiomyocytter og endotelceller i det skadede væv, hvilket igangsætter produktionen af VEGF i de næste 24-120 timer [4]. VEGF-proteiner binder til specifikke receptorer, primært udtrykt på overfladen af endotelceller, og igangsætter en kaskade af intracellulære signaler, hvilket resulterer i angiogenese (Figur 2) [5, 6]. Langvarig hypoksi fører dog til, at  $\alpha$ -proteinerne nedbrydes som en naturlig negativ feedback [7]. Dette medfører, at VEGF ikke produceres mere, og angiogenesis ophører. Dette kan være med til at forklare, hvorfor det iskæmiske væv hos nogle patienter med kronisk iskæmi ikke revaskulariseres.

Flere prækliniske studier giver holdepunkter for, at behandling med VEGF øger angiogenesis [8, 9].

**FIGUR 2 /** Vaskulær endotelial vækstfaktor (VEGF) inducerer angiogenese. Fibroblaster fungerer som støtteceller og forankringsnet til endotelceller (grønne). Ustimulerede celler dyrket i petriskål uden VEGF viser få grene uden klynger af endotelceller (A), hvorimod celler stimuleret med rekombinant VEGF-165 giver ophav til forgreninger mellem endotelcellerne (B).



## KLINISK BRUG AF VASKULÆR ENDOTELIAL VÆKSTFAKTOR

Gen- og stamcelleterapi er i videnskabelige studier et potentielt behandlingstilbud til patienter med iskæmisk hjertesygdom (IHD), hvor standardbehandling ikke er tilstrækkelig.

### Åbne studier med behandling med vaskulær endotelial vækstfaktor

De første, små, åbne kliniske studier med VEGF-behandling af patienter med IHD blev publiceret omkring årtusindskiftet. I de fleste af studierne har man set på ændringer i myokardieperfusionen.

*Losordo et al* sprøjtede plasmid-*VEGF-A-165* direkte ind i hjertemuskulaturen via en minitorakotomi hos fem patienter med kronisk IHD. Patienterne fik forbedret myokardieperfusionen målt ved single photon emission computed tomography (SPECT) [10], hvilket et par år senere kunne genfindes ved behandling af 13 patienter med kronisk IHD [11]. Sideløbende behandlede en anden amerikansk gruppe 14 patienter med kronisk IHD med rekombinant humant VEGF-protein intrakoronart. De viste også, at proteinet signifikant forbedrede SPECT-hvileperfusionen [12]. På samme tidspunkt indsprøjtede en svensk gruppe plasmid-*VEGF-A-165* intramyokardielt via torakotomi hos seks patienter med refraktær angina. Studiet viste ligeledes en forbedring i SPECT-myokardieperfusion [13]. En argentinsk gruppe påviste, at intramyokardielle injektioner af plasmid-*VEGF-A-165* til ti patienter med refraktær angina var sikker ved to-års-followup [14]. Ligeledes behandlede en brasiliansk forskningsgruppe 13 patienter med kronisk IHD med plasmid-*VEGF-A-165* intramyokardielt og fandt, at behandlingen var sikker [15].

I et enkelt åbent amerikansk studie har man set på hårdere endepunkter:

To-års-followup efter VEGF-2-indsprøjtninger i myokardiet via torakotomi hos 30 patienter med kronisk IHD viste færre tilfælde af død, myokardieinfarkt og revaskularisering hos de VEGF-2-behandlede end hos de patienter, som ikke blev behandlet med VEGF-2 [16].

Således har man i de åbne studier, hvor man har anvendt VEGF til patienter med IHD, påvist en tydelig forbedring i myokardieperfusionen.

### Randomiserede studier med vaskulær endotelial vækstfaktor

#### *Randomiserede studier med fokus på ændringer i myokardieperfusionen*

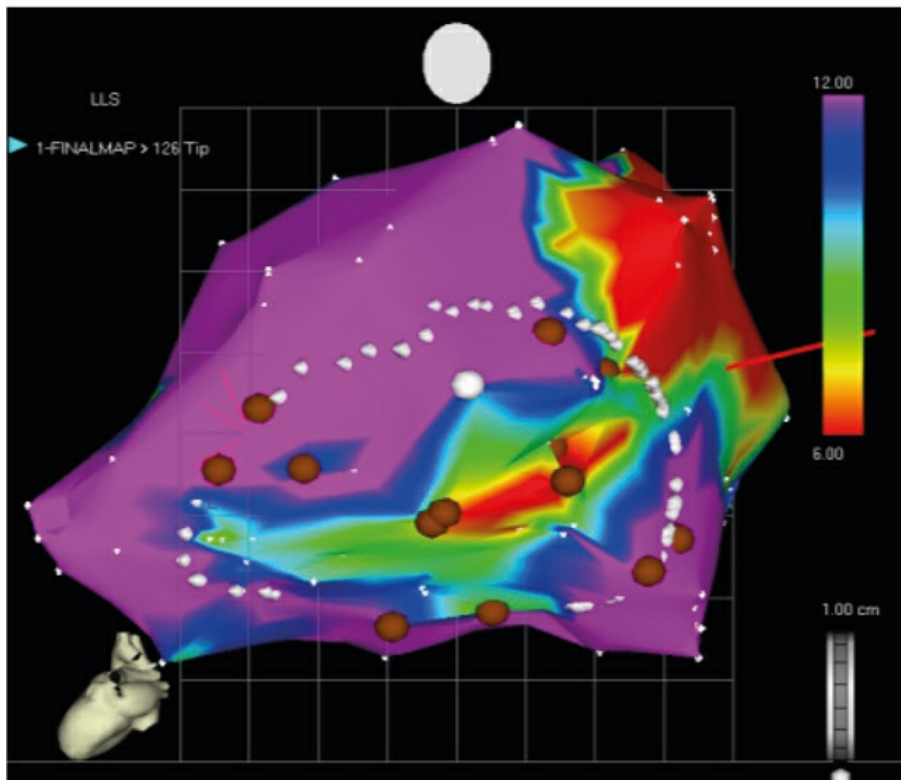
I et dobbeltblindet placebokontrolleret studie blev 103 patienter med kronisk IHD behandlet med perkutan koronarintervention samtidig med intrakoronar infusion af adenovirus-*VEGF-A-165*, plasmid-*VEGF-A-165* eller Ringers laktat. Behandlingen viste en signifikant forbedring i SPECT-myokardieperfusion hos de adenovirus-*VEGF-A-165*-behandlede ved seks månedersfollowup [17]. Gruppen viste også, at VEGF-D forbedrer myokardieperfusionsreserven (MPR) i et randomiseret placebokontrolleret studie med 30 patienter med kronisk IHD. MPR steg signifikant hos patienter, som fik intramyokardielle injektioner af VEGF-D, efter tre og tolv måneder målt med PET, mens MPR forblev uændret i placebogruppen [18].

I NOTHERN-studiet randomiserede man patienter med kronisk IHD til enten placebo eller intramyokardielle injektioner af plasmid-*VEGF-A-165* efter forudgående NOGA-mapping mhp. forbedring i SPECT-myokardieperfusion. Det lykkedes dog ikke at se en signifikant forskel i perfusionsdata mellem grupperne [19].

Man har forsøgt at kombinere VEGF med fibroblastvækstfaktor (FGF) i et randomiseret placebokontrolleret studie, hvor sammensætningen blev injiceret intramyokardielt i områder, hvor der var nedsat SPECT-stressperfusion. I studiet blev 33 patienter med kronisk IHD behandlet med plasmid-*VEGF-A-165*/basic FGF og 19 patienter med placebo. Behandlingen medførte ingen ændringer i myokardieperfusionen. Patienterne i behandlingsarmen havde dog færre hjerteklager og bedre arbejdskapacitet end placebogruppen [20].

I det første danske studie, som blev publiceret i 2005, Euroinject One-studiet, blev 80 patienter med kronisk IHD inkluderet og randomiseret til enten plasmid-*VEGF-A-165* eller placebo. De intramyokardielle injektioner blev foretaget kateterbaseret guidet af NOGA-mapping i områder med perfusionsdefekt visualiseret på stress-SPECT (Figur 3). Efter tre måneder observerede man en forbedring i venstre ventrikels vægbevægelse ved NOGA og ventrikulografi, men man fandt ingen forskel i stressinduceret perfusionsdefekt på SPECT mellem de to grupper [21].

**FIGUR 3 /** NOGA-mapping. Elektromekanisk mapping af venstre ventrikel til identifikation af iskæmisk og noniskæmisk myokardium, hvor injektioner intramyokardielt er angivet som brune punkter.



Det danske forskerhold publicerede senere i 2011 NOVA-studiet med 17 patienter med kronisk IHD, som var blevet randomiseret til enten adenovirus-VEGF-121 eller placeboinjektioner intramyokardielt NOGA-vejledt. Behandlingen var sikker, men uden forbedring i SPECT-myokardieperfusion eller i arbejdskapaciteten. Studiet blev stoppet før tid af firmaet bag produktet [22].

En kombineret tilgang med intramyokardielle injektioner af plasmid-*VEGF-A-165* og seks dages stimulering med granulocyt-kolonistimulerende faktor dagligt i en uge efter injektionerne blev foretaget hos 16 patienter med kronisk IHD og sammenholdt med 16 patienter, der fik placeboinjektioner. De danske forskere bag studiet kunne bekræfte, at behandlingen var sikker, men fandt ingen forskel i myokardieperfusion eller symptomer mellem de to grupper [23].

*Randomiserede studier med fokus på patienternes arbejdskapacitet*

I VIVA-studiet randomiserede man 178 patienter med kronisk IHD til placebo eller to forskellige doser af rekombinant humant VEGF-protein intrakoronart efterfulgt af intravenøs infusion tre, seks og ni dage efter den initiale behandling. Der fandtes ingen signifikant forskel i det primære endepunkt for studiet, som var forskel mellem grupperne i arbejdskapacitet fra baseline til 60-dagesfollowup [24].

I et dosistitreringsstudie blev 19 patienter med kronisk IHD behandlet med intramyokardielle injektioner af plasmid-*VEGF-2*. Studiet viste en tendens til forbedring i arbejdskapacitet, angina og selvrapporert helbred [25].

I REVASC-studiet blev 67 patienter med kronisk IHD randomiseret til enten medicinsk terapi eller intramyokardielle adenovirus-*VEGF-121*-injektioner via minitorakotomi. Det primære endepunkt, arbejdskapacitet målt i tid til 1 mm ST-depression på EKG, var efter 26 uger signifikant højere hos de adenovirus-*VEGF-121*-behandlede end hos standardterapigruppen. Desuden var den samlede arbejdskapacitet målt i tid også signifikant forbedret hos personerne i adenovirus *VEGF-121*-gruppen [26].

GENASIS var et større amerikansk multicenterstudie, hvor man inkluderede patienter med kronisk IHD til plasmid-*VEGF-2* eller placeboinjektioner i myokardiet. Studiet blev stoppet efter 295 af de planlagte 404 patienter, idet man fandt en lav sandsynlighed for et positivt outcome, samtidig med at man oplevede problemer med injektionskatetrene [27].

VEGF-A-165-protein har været anvendt til stimulation af stamceller i et dansk dobbeltblindet studie, hvor patienter med kronisk IHD blev randomiseret til enten intramyokardielle injektioner af fedtvævsderiverede mesenkymale stamceller (ASC) eller placebo. Studiet viste en signifikant forbedring i arbejdskapaciteten i ASC-gruppen, men ikke i placebogruppen efter seks måneder. Tre år efter injektionerne fandt man, at arbejdskapaciteten var signifikant reduceret i placebogruppen, hvilket ikke var tilfældet i ASC-gruppen. Samtidig fandt man en forbedring af symptomerne i ASC-gruppen, mens patienterne i placebogruppen oplevede uændrede symptomer [28, 29].

## DISKUSSION

De randomiserede studier har således vist, at behandlingen er sikker, men ikke entydigt effektiv på myokardieperfusionen eller arbejdskapaciteten.

### Langtidsbivirkninger

Et andet vigtigt aspekt af VEGF-behandlingen er langtidsbivirkninger, som er belyst i et studie med 31 patienter, der blev fulgt i 11,8 år. Patienterne var blevet behandlet med adenovirus-*VEGF-121* samtidig med koronarbypassgrafting eller adenovirus-*VEGF-121* via minitorakotomi. Man fandt behandlingen sikker og uden en øget forekomst af cancer eller retinopati i forhold til baggrundsbefolkningen [30].

### Perspektiver og fremtidige studier

Flere forskningsgrupper har fortsat udviklingsarbejdet med VEGF til klinisk brug hos hjertepatienter.

EXACT er et firmainitieret multicenterstudie, som netop er begyndt at rekruttere 29 patienter med refraktær angina til fire forskellige injektionsdoser af VEGF-A116A+ intramyokardielt via transtorakal epikardiel tilgang (NCT04125732).

ReGenHeart er et finskinitieret studie med dansk deltagelse (NCT03039751). Der er planlagt inklusion af 180 patienter med refraktær angina, venstre ventrikels uddrivningsfraktion  $\geq 25\%$  og signifikant stenose på en af kranspulsårerne  $> 60\%$ , som ikke kan revaskulariseres. Patienterne bliver randomiseret til enten adenovirus-

VEGF-D- eller placeboinjektioner intramyokardielt. Det primære endepunkt er seksminuttersgangtest. Studiet er initieret og rekrutterer patienter i Danmark og Finland.

## KONKLUSION

Behandling med VEGF til patienter med kronisk IHD er fundet sikker og har vist lovende resultater. De hidtidige studier har været små, men har bl.a. været med til at udvikle injektionsteknikken og injektionsprodukterne samt identifikation af patientgruppen, som forventes at have gavn af behandlingen. Det har ikke været entydigt, hvordan og hvornår behandlingens effekt bør evalueret.

I takt med at medicinsk behandling og konventionel revaskulariserende terapi udvikler sig, indsnævres antallet af patienter med refraktær angina. Samtidig er der en relativt lav dødelighed i denne patientgruppe, hvilket gør, at der skal inkluderes et stort antal patienter med en lang followuptid for at dokumentere, at behandlingen er effektiv på hårde endepunkter som f.eks. myokardieinfarkt, revaskularisering og død. Desuden er der behov for effektive evalueringsmetoder til visualisering af den regenerative del af myokardiet, hvor hjerte-MR-skanning med gadoliniumkontrast kan spille en rolle.

**KORRESPONDANCE:** *Abbas Ali Qayyum*. E-mail: [abbas.ali.qayyum@regionh.dk](mailto:abbas.ali.qayyum@regionh.dk)

**ANTAGET:** 25. juni 2020

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 26. oktober 2020

**INTERESSEKONFLIKTER:** ingenForfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

**LITTERATUR:** Findes i artiklen publiceret på Ugeskriftet.dk

## SUMMARY

### Vascular endothelial growth factor therapy in ischaemic heart disease

Abbas Ali Qayyum, Francis Richard Joshi, Lisbeth Drozd Lund, Rebekka Harary Søndergaard & Jens Kastrup

Ugeskr Læger 2020;182:V05200344

Atherosclerosis of coronary arteries can result in a hypoxic state where myocardial cells may become dysfunctional or die. The oxygen sensing transcription factor hypoxia inducible factor 1 responds to low oxygen levels by elevating the production of angiogenic growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF). Despite this, endogenous processes and conventional therapies are inefficient in some patients. To stimulate angiogenesis, VEGF has been injected into the myocardium. As stated in this review, this therapy has so far been proven safe and studies are conducted in several countries, including Denmark.

## LITTERATUR

1. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003;9:677-84.
2. Folkman J, Merler E, Abernathy C, et al. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J Exp Med* 1971;133:275-88.
3. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-8.
4. Lee SH, Wolf PL, Escudero R et al. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *N Engl J Med* 2000;342:626-33.
5. Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA et al. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: binding and signalling at VEGFR2. *Int J Mol Sci* 2018;19:1264.

6. Eliceiri BP, Cheresch DA. The role of  $\alpha_v$  integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. *J Clin Invest* 1999;103:1227-30.
7. Marxsen JH, Stengel P, Doege K et al. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) promotes its degradation by induction of HIF- $\alpha$ -prolyl-4-hydroxylases. *Biochem J* 2004;381:761-7.
8. Pearlman JD, Hibberd MG, Chuang ML et al. Magnetic resonance mapping demonstrates benefits of VEGF-induced myocardial angiogenesis. *Nat Med* 1995;1:1085-9.
9. Banai S, Jaklitsch MT, Shou M et al. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. *Circulation* 1994;89:2183-9.
10. Losordo DW, Vale PR, Symes JF, et al. Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation* 1998;98:2800-4.
11. Vale PR, Losordo DW, Milliken CE et al. Left ventricular electromechanical mapping to assess efficacy of phVEGF(165) gene transfer for therapeutic angiogenesis in chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2000;102:965-74.
12. Hendel RC, Henry TD, Rocha-Singh K et al. Effect of intracoronary recombinant human vascular endothelial growth factor on myocardial perfusion: evidence for a dose-dependent effect. *Circulation* 2000;101:118-21.
13. Sylvén C, Sarkar N, Rück A, et al. Myocardial Doppler tissue velocity improves following myocardial gene therapy with VEGF-A165 plasmid in patients with inoperable angina pectoris. *Coron Artery Dis* 2001;12:239-43.
14. Favalaro L, Diez M, Mendiz O et al. High-dose plasmid-mediated VEGF gene transfer is safe in patients with severe ischemic heart disease (Genesis-I). *Catheter Cardiovasc Interv* 2013;82:899-906.
15. Giusti II, Rodrigues CG, Salles FB et al. High doses of vascular endothelial growth factor 165 safely, but transiently, improve myocardial perfusion in no-option ischemic disease. *Hum Gene Ther Methods* 2013;24:298-306.
16. Reilly JP, Grise MA, Fortuin FD et al. Long-term (2-year) clinical events following transthoracic intramyocardial gene transfer of VEGF-2 in no-option patients. *J Interv Cardiol* 2005;18:27-31.
17. Hedman M, Hartikainen J, Syväne M et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003;107:2677-83.
18. Hartikainen J, Hassinen I, Hedman A et al. Adenoviral intramyocardial VEGF-D $\Delta$ N $\Delta$ C gene transfer increases myocardial perfusion reserve in refractory angina patients: a phase I/IIa study with 1-year follow-up. *Eur Heart J* 2017;38:2547-55.
19. Stewart DJ, Kutryk MJB, Fitchett D et al. VEGF gene therapy fails to improve perfusion of ischemic myocardium in patients with advanced coronary disease: results of the NORTHERN trial. *Mol Ther* 2009;17:1109-15.
20. Kuku&a K, Chojnowska L, D&;browski M et al. Intramyocardial plasmid-encoding human vascular endothelial growth factor A165/basic fibroblast growth factor therapy using percutaneous transcatheter approach in patients with refractory coronary artery disease (VIF-CAD). *Am Heart J* 2011;161:581-9.
21. Kastrup J, Jørgensen E, Rück A et al. Direct intramyocardial plasmid vascular endothelial growth factor-A165 gene therapy in patients with stable severe angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:982-8.
22. Kastrup J, Jørgensen E, Fuchs S et al. A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre study of the safety and efficacy of BIOBYPASS (AdGVVEGF121.10NH) gene therapy in patients with refractory advanced coronary artery disease: the NOVA trial. *EuroIntervention* 2011;6:813-8.
23. Ripa RS, Wang Y, Jørgensen E et al. Intramyocardial injection of vascular endothelial growth factor-A165 plasmid followed by granulocyte-colony stimulating factor to induce angiogenesis in patients with severe chronic ischaemic heart disease. *Eur Heart J* 2006;27:1785-92.
24. Henry TD, Annex BH, McKendall GR et al. The VIVA trial: vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis. *Circulation* 2003;107:1359-65.
25. Losordo DW, Vale PR, Hendel RC et al. Phase 1/2 placebo-controlled, double-blind, dose-escalating trial of myocardial vascular endothelial growth factor 2 gene transfer by catheter delivery in patients with chronic myocardial ischemia. *Circulation* 2002;105:2012-8.
26. Stewart DJ, Hilton JD, Arnold JMO et al. Angiogenic gene therapy in patients with nonrevascularizable ischemic heart disease: a phase 2 randomized, controlled trial of AdVEGF(121) (AdVEGF121) versus maximum medical treatment. *Gene Ther* 2006;13:1503-11.

27. Corautus Announces Termination of Patient Enrollment in GENASIS Severe Angina Clinical Trial. [www.ptca.org/pr\\_gen/20060410\\_corautus.html](http://www.ptca.org/pr_gen/20060410_corautus.html) (19. apr 2020).
28. Qayyum AA, Mathiasen AB, Mygind ND et al. Adipose-derived stromal cells for treatment of patients with chronic ischemic heart disease (mystromalcell trial): a randomized placebo-controlled study. *Stem Cells Int* 2017;2017:5237063.
29. Qayyum AA, Mathiasen AB, Helqvist S, et al. Autologous adipose-derived stromal cell treatment for patients with refractory angina (MyStromalCell Trial): 3-years follow-up results. *J Transl Med* 2019;17:360.
30. Rosengart TK, Bishawi MM, Halbreiner MS et al. Long-term follow-up assessment of a phase 1 trial of angiogenic gene therapy using direct intramyocardial administration of an adenoviral vector expressing the VEGF121 cDNA for the treatment of diffuse coronary artery disease. *Hum Gene Ther* 2013;24:203-8.