

Fibrogénesis y enfermedad inflamatoria intestinal

Miquel Sans y M. Carmen Masamunt

Servicio de Gastroenterología. Hospital Clínic/IDIBAPS. Barcelona. España.

RESUMEN

Una elevada proporción de los pacientes con enfermedad de Crohn desarrollan estenosis intestinales, debidas al depósito anómalo de fibra, y requieren a menudo la resección del segmento afectado. A pesar de su evidente relevancia clínica, la fibrogénesis intestinal ha recibido muy poca atención, en comparación con el esfuerzo investigador destinado a la fibrosis hepática, pulmonar, renal o cutánea.

Parece haber una cierta predisposición genética para el desarrollo de fibrosis intestinal, y un metaanálisis ha demostrado que las tres variantes principales del gen *NOD2/CARD15* se asocian con esta complicación. En los últimos años, en la enfermedad de Crohn se han descrito una serie de alteraciones en la síntesis de colágeno, expresión de diversos factores profibrogénicos y antifibrogénicos y función de los fibroblastos intestinales y, más recientemente, se ha logrado atenuar el desarrollo de fibrosis intestinal en diversos modelos experimentales. No obstante, son necesarios más estudios para poder comprender mejor la fibrogénesis intestinal y desarrollar estrategias eficaces para su prevención y tratamiento.

FIBROGENESIS AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

A substantial proportion of patients with Crohn's disease develops intestinal stenosis due to anomalous fiber deposits. These patients frequently require resection of the affected segment. Despite its evident clinical significance, intestinal fibrogenesis has received little attention in comparison with research into hepatic, pulmonary, renal or cutaneous fibrosis. There seems to be a certain genetic predisposition to developing intestinal fibrosis. A meta-analysis has demonstrated that the three main variants of the *NOD2/CARD15* gene are associated with this complication. In Crohn's disease, a series of alterations in collagen synthesis, expression of va-

rious pro- and anti-fibrogenic factors and intestinal fibroblast function have been described in the last few years. More recently, the development of intestinal fibrosis has been attenuated in several experimental models. Nevertheless, further studies are required to improve our understanding of intestinal fibrogenesis and to develop effective strategies for its prevention and treatment.

RELEVANCIA CLÍNICA DE LA FIBROSIS INTESTINAL

La enfermedad de Crohn (EC) es una entidad relativamente prevalente en nuestro medio (100-150 pacientes por 100.000 habitantes, lo cual supone unos 50.000 pacientes en España y medio millón en Europa), y su incidencia ha aumentado muy notablemente en los últimos años. La EC se caracteriza por ser una enfermedad muy heterogénea, lo cual ha obligado a proponer diversas clasificaciones, basadas en el comportamiento clínico o el fenotipo de cada paciente. Las dos clasificaciones más recientemente descritas (Viena y Montreal) definen 3 fenotipos principales: inflamatorio, estenosante y fistulizante^{1,2}. Los pacientes con EC estenosante se caracterizan por presentar una notable reducción de la luz que dificulta el tránsito intestinal (fig. 1). En estos pacientes los síntomas más frecuentes son el dolor abdominal, de características oclusivas, junto a la distensión abdominal, las náuseas y los vómitos, a menudo en ausencia de síntomas y parámetros analíticos sugestivos de actividad inflamatoria^{3,4}.

Si bien sólo el 10% de los pacientes con EC presenta un fenotipo estenosante en el momento del diagnóstico de la enfermedad, el desarrollo posterior de estenosis es frecuente, y puede afectar en algún momento de su evolución a cerca del 50% de los pacientes con EC⁵. Es importante señalar que el desarrollo de un fenotipo estenosante condiciona notablemente la calidad de vida de los pacientes con EC, pues, además de los síntomas mencionados, es causa de repetidos ingresos hospitalarios, en ocasiones prolongados, debidos a episodios de oclusión o suboclusión intestinal. Al no haber ningún tratamiento médico específico para esta complicación, muchos de estos pacientes acabarán precisando tratamiento quirúrgico, que consiste en la resección del segmento intestinal afectado.

Correspondencia: Dr. M. Sans.
Servicio de Gastroenterología. Hospital Clínic.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: msans@clinic.ub.es

Recibido el 25-3-2006; aceptado para su publicación el 27-3-2006.



Fig. 1. Tránsito intestinal correspondiente a un paciente con enfermedad de Crohn de fenotipo estenosante. La imagen radiológica muestra una afección extensa del íleon terminal, con una clara reducción de su calibre, irregularidad de la mucosa y dilatación de la asa preestenótica.

Esta alternativa, además, tiene el inconveniente de no ser una solución definitiva para los pacientes con EC, pues la enfermedad reaparece en una gran proporción de éstos, pocos años después de la primera intervención, y el 40% de los casos precisa una segunda intervención quirúrgica⁶. El desarrollo de estenosis en los pacientes con EC se debe a alteraciones en los mecanismos de reparación de las lesiones ulcerativas que aparecen en los brotes de actividad de esta enfermedad. La hipótesis más aceptada en la actualidad es que el subgrupo de pacientes que desarrollan una EC de fenotipo estenosante presenta una predisposición genética, que implica un proceso de reparación de la lesión intestinal anómalo, lo que conduce finalmente a una excesiva proliferación de fibroblastos y otras células mesenquimales y a un mayor depósito de colágeno, lo que acaba causando, en última instancia, la fibrosis intes-

tinal. No obstante, y a diferencia de la fibrosis hepática, pulmonar o cutánea, que han sido motivo de intensa investigación en los últimos años^{7,8}, hay muy poca información sobre los mecanismos moleculares que regulan la fibrogénesis intestinal en la EC, algo realmente sorprendente si tenemos en cuenta su probada relevancia clínica.

FACTORES GENÉTICOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE ENFERMEDAD DE CROHN ESTENOSANTE

Es bien sabido que los factores genéticos desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la EC. En los últimos años, numerosos estudios han intentado establecer la influencia que cada uno de dichos factores genéticos ejerce tanto en la susceptibilidad (riesgo de desarrollar la enfermedad), como en el fenotipo o curso clínico seguido por la EC. El factor genético asociado de forma más constante a un fenotipo estenosante de la EC es el *NOD2/CARD15*^{6,9-11}, cuyas tres variantes principales (*SNP8*, *SNP12* y *SNP13*) son, además, el principal factor de susceptibilidad para desarrollar la EC. En ese sentido, resulta muy útil el metaanálisis publicado por Economou et al¹² en 2004, en el cual se incluyeron datos procedentes de 42 estudios que habían evaluado la presencia de las tres principales variantes del gen *NOD2/CARD15* en diferentes cohortes de pacientes con EC. Este metaanálisis demuestra que las variantes del gen *NOD2* condicionan un moderado incremento del riesgo de presentar un fenotipo estenosante, cuya *odds ratio* es de 1,94 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,61-2,34). Más recientemente, también se ha descrito la asociación de un polimorfismo (T280M) en el receptor de *fractalkine*, una quemoquina implicada en los fenómenos de quimotaxis y de adhesión leucocitaria al endotelio, a un mayor riesgo de presentar EC estenosante¹³.

SÍNTESIS DE COLÁGENO Y OTROS COMPONENTES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

Diversos estudios realizados en las décadas de los ochenta y noventa utilizaron técnicas de inmunohistoquímica, hibridación in situ y *northern blot* para estudiar los tipos celulares presentes en la pared intestinal, así como para cuantificar el depósito de colágeno y de otros componentes de la matriz extracelular, en muestras de intestino de pacientes afectados de EC estenosante, EC no estenosante, colitis ulcerosa (CU) y en sujetos sanos. Graham et al¹⁴ demostraron que en el intestino de los pacientes con EC estenosante hay un mayor número de células musculares lisas, tanto en la capa muscularis mucosa como en la muscularis propia; asimismo, se produce una mayor síntesis y depósito de colágeno y se detecta también un aumento relativo del colágeno tipo V. Otros autores¹⁵, en cambio, al comparar los hallazgos obtenidos en los pacientes con EC y CU observaron que en el intestino de los pacientes con EC hay una mayor expresión de procolágeno I, III y IV que en el de los pacientes con CU. Más recientemente, se

ha descrito la presencia de grandes acumulaciones de mastocitos en las estenosis intestinales. Los mastocitos se concentran en la capa muscular del intestino y su localización coincide con el depósito de laminina, pero no con el de otros componentes de la matriz extracelular, como fibronectina o vitronectina¹⁶. Esta observación sugiere que los mastocitos participan en la fibrogénesis intestinal, activando células mesenquimales de la capa muscular, que serían las responsables de la síntesis anómala de laminina. La presencia de unos valores altos de laminina y bajos de colágeno IV en el plasma de los pacientes afectados de EC y CU¹⁷ apoya esta hipótesis.

FACTORES PROFIBROGÉNICOS INTESTINALES

Una vez descubierta la presencia de alteraciones en la síntesis de colágeno y de otros componentes de la matriz extracelular en los pacientes con EC, el foco de atención de la mayoría de los trabajos se centró en el estudio de diversos factores profibrogénicos o antifibrogénicos, como posible explicación a las alteraciones observadas. Dammeier et al¹⁸ hallaron un notable incremento del ARN mensajero del *connective tissue growth factor* (CTGF) en el intestino de pacientes con EC o CU, respecto a muestras de intestino sano. Además, el mismo trabajo demostró que la expresión de dicho factor era máxima en zonas de fibrosis o inflamación muy grave, y también que había una estrecha correlación entre la expresión de CTGF y la de *transforming growth factor* (TGF) β 1 (su inductor), colágeno I y fibronectina. En otro estudio similar, Di Mola et al¹⁹ hallaron una expresión de CTGF 5 veces mayor en la EC que en la CU o en muestras de colon sano, utilizando hibridación in situ y northern blot.

Además del CTGF, dos de los factores con mayor capacidad para inducir fibrosis en diversos tejidos son el TGF- β y el *insulin-like growth factor* (IGF) 1. En un interesante estudio, Lawrance et al²⁰ demostraron que la localización de la inflamación intestinal (limitada a la lámina propia en la CU y transmural en la EC) es la que determina el incremento de la expresión de TGF- β y IGF-1 en el intestino, el cual origina finalmente el depósito anómalo de colágeno, con un incremento de la ratio colágeno III/colágeno, y el desarrollo de fibrosis. En otras palabras, según estos autores sería únicamente la localización transmural de la inflamación, y no una alteración específica de la EC, lo que explicaría la tendencia a desarrollar estenosis intestinal transmural en la EC y no en la CU.

La presencia de una expresión aumentada de IGF-1 y de su receptor en los pacientes con EC se ha confirmado en otros estudios^{21,22}, en los que se ha observado también un mayor número de fibroblastos y miofibroblastos, así como una mayor síntesis de procolágeno α 1.

METALOPROTEINASAS Y DEGRADACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

En cualquier tejido se produce de forma fisiológica un equilibrio entre la síntesis y la degradación de colágeno y

de otros componentes de la matriz extracelular. Las metaloproteinasas son un grupo numeroso de enzimas implicadas en este último proceso, de forma que una alteración en su función (o en la de las moléculas que regulan su actividad) puede ser causa de fibrogénesis patológica.

En un primer estudio, Bailey et al²³ hallaron tanto un aumento del número de células inflamatorias positivas para gelatinasa B como una mayor expresión extracelular de stromelysin, limitada a áreas de fibrosis intestinal en los pacientes con EC. Resultados parecidos se obtuvieron en un estudio más reciente, realizado en pacientes de edad pediátrica afectados de EC y CU. De nuevo, se observó un incremento de la expresión de la metaloproteinasas stromelysin, tanto en la EC como en la CU, respecto a los controles sanos. En cambio, no hubo diferencias en la expresión del *tissue inhibitor of metalloproteinases* (TIMP) 1 entre los 3 grupos²⁴. Es posible que el incremento en la expresión de metaloproteinasas descrito en los dos trabajos anteriores no sea exclusivo de la enfermedad inflamatoria intestinal, sino común a cualquier otra entidad que curse con ulceraciones del intestino. Así lo sugieren los resultados de un estudio en el que, además de EC y CU, se incluyó a pacientes afectados de colitis isquémica. En este estudio se analizó la expresión de diferentes metaloproteinasas y sus inhibidores, mediante hibridación in situ e inmunohistoquímica, y se concluyó que hay un patrón de sobreexpresión de diversos factores (colagenasa 3, stromelysin 2 y TIMP 3) común a las 3 entidades que cursan con ulceración colónica (EC, CU y colitis isquémica), que no se observa en el colon sano²⁵.

TÉCNICAS DE AISLAMIENTO DE FIBROBLASTOS INTESTINALES

Es bien sabido que diversas células mesenquimales, como los fibroblastos, los miofibroblastos y las células musculares lisas, desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la fibrosis en diferentes tejidos. En cambio, es todavía motivo de controversia si la causa inicial de la fibrosis reside en alteraciones primarias de dichas células o bien si éstas sólo actúan como efectoras, respondiendo a señales que tienen lugar con anterioridad y, probablemente, relacionadas con el fenómeno inflamatorio. Para aclarar este punto, en el caso de la fibrogénesis intestinal asociada a la EC se han desarrollado en los últimos años diversas técnicas que permiten obtener fibroblastos y otras células mesenquimales a partir de muestras de intestino, para ser luego estudiadas in vitro, desde un punto de vista tanto morfológico y funcional.

Hay dos tipos de técnicas para obtener fibroblastos a partir de muestras de intestino: *a*) técnicas basadas en el sobrecrecimiento (*outgrowth*), que consisten en mantener un fragmento de mucosa intestinal en condiciones de cultivo favorables, de forma que, pasado un tiempo, los fibroblastos son los únicos tipos celulares capaces de adherirse al plástico y proliferar^{26,27}, y *b*) técnicas basadas en la digestión enzimática del tejido, mediante las cuales se realiza un proceso de triturado mecánico y digestión enzi-

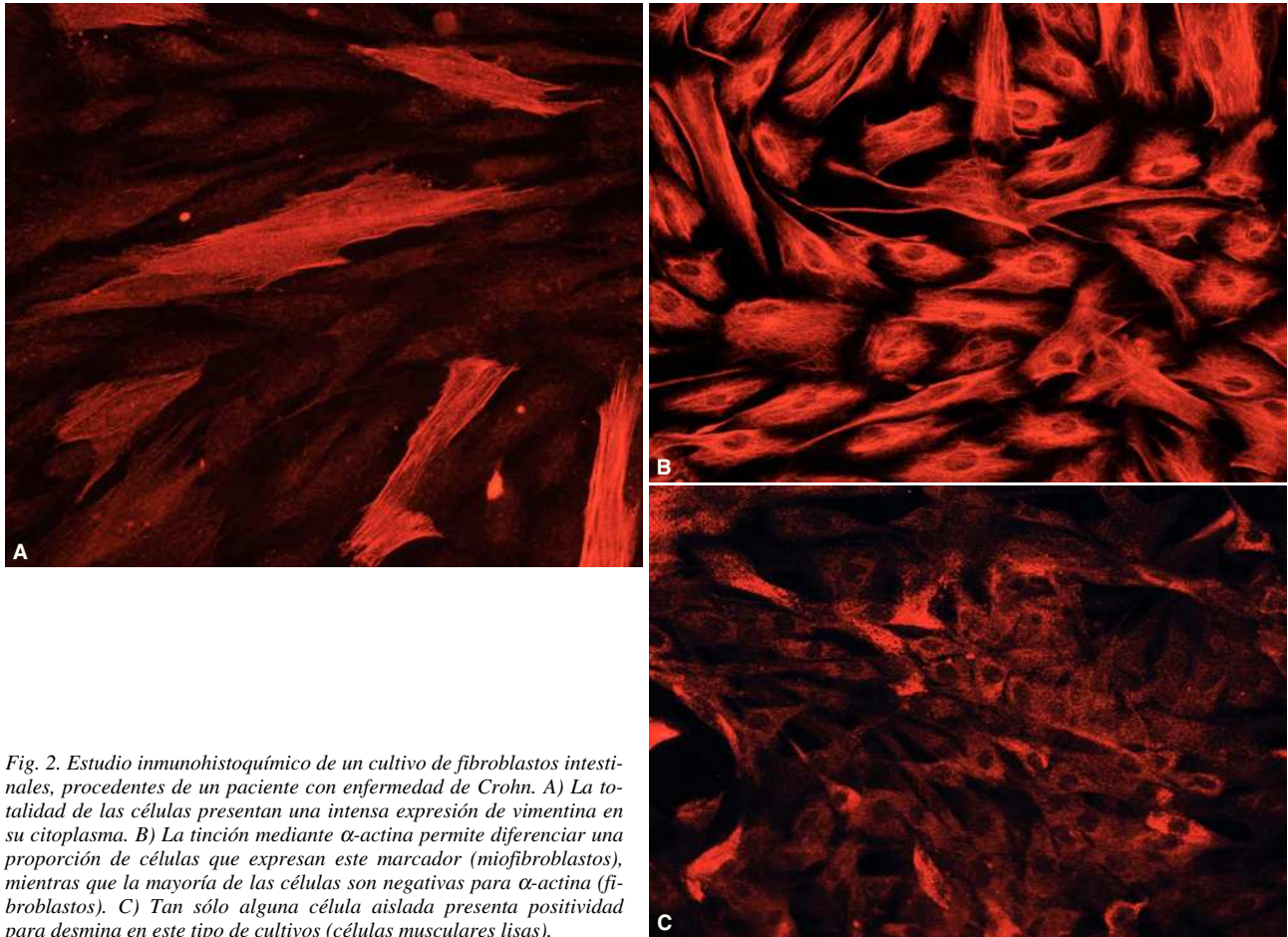


Fig. 2. Estudio inmunohistoquímico de un cultivo de fibroblastos intestinales, procedentes de un paciente con enfermedad de Crohn. A) La totalidad de las células presentan una intensa expresión de vimentina en su citoplasma. B) La tinción mediante α -actina permite diferenciar una proporción de células que expresan este marcador (miofibroblastos), mientras que la mayoría de las células son negativas para α -actina (fibroblastos). C) Tan sólo alguna célula aislada presenta positividad para desmina en este tipo de cultivos (células musculares lisas).

mática de la mucosa intestinal, como paso previo al cultivo descrito anteriormente²⁸.

Hay diversos tipos de células mesenquimales que pueden aislarse de la pared intestinal. Si bien a menudo se hace referencia a ellas, de forma genérica, como «fibroblastos intestinales» o «células mesenquimales del intestino», pueden diferenciarse 3 tipos celulares distintos mediante inmunohistoquímica: a) fibroblastos, que son vimentina (+), α -actina (-) y desmina (-); b) miofibroblastos, que se diferencian de los anteriores por ser α -actina (+), lo cual les confiere capacidad contráctil, y c) células musculares lisas, que son positivas para los 3 marcadores mencionados y suponen sólo un pequeño porcentaje del total de células aisladas^{20,22} (fig. 2).

Las técnicas para aislar fibroblastos intestinales no proporcionan un aislamiento «puro», sino una mezcla de estos 3 tipos celulares. En este sentido, Strong et al²⁹ demostraron que las técnicas que incluyen digestión enzimática de la mucosa proporcionan un mayor porcentaje de miofibroblastos que las técnicas de sobrecrecimiento. También se debe tener en cuenta que dicho fenotipo no es algo fijo en el tiempo, sino que puede producirse una transformación de un tipo celular a otro, en función de diferentes estímulos. Así, el TGF- β induce la transformación hacia un fenotipo tipo miofibroblasto³⁰,

igual que cuando las células son cultivadas a baja densidad³¹, mientras que el IGF-1 induce la transformación de miofibroblastos en fibroblastos³⁰.

ESTUDIOS MORFOLÓGICOS Y FUNCIONALES EN FIBROBLASTOS INTESTINALES AISLADOS

Diversos estudios han demostrado que los fibroblastos intestinales procedentes de pacientes con EC poseen una serie de características funcionales específicas. Este hecho apoyaría la teoría que sostiene que hay una serie de alteraciones primarias en los fibroblastos intestinales como responsables, al menos en parte, de la fibrogénesis anómala que tiene lugar en la EC. En uno de los primeros estudios, Stallmach et al³² demostraron que los fibroblastos obtenidos de zonas estenóticas del intestino de pacientes con EC sintetizan una mayor cantidad de colágeno, especialmente de tipo III, y son más sensibles a la acción estimuladora del TGF- β 1. Dos estudios^{28,33} coinciden en señalar que los fibroblastos intestinales procedentes de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (tanto EC como CU) proliferan de forma más rápida, tanto basalmente como en respuesta a diferentes estímulos, que los fibroblastos obtenidos a partir de muestras de colon sano. En uno de estos

estudios³³ la capacidad de proliferación fue mayor en la EC estenosante que en la CU, mientras que en el otro estudio²⁸ no se observaron diferencias entre las dos enfermedades. También se han observado diferencias en relación con la capacidad de activación de los fibroblastos. Vogel et al²⁷ demostraron que los fibroblastos intestinales procedentes de pacientes con EC y CU poseen una expresión mucho mayor de la molécula coestimuladora CD40. Al ser expuestos al ligando de esta molécula (CD40L), se produce una gran activación de los fibroblastos, demostrada por el incremento de diversas moléculas de adhesión en su superficie, como ICAM-1 y VCAM-1, la secreción de interleucina (IL) 8 y la capacidad de unirse a linfocitos. Finalmente, los fibroblastos procedentes de pacientes con EC estenosante expresan más TGF- β 2, menos TGF- β 3 y menos TIMP-1 que los fibroblastos obtenidos a partir de muestras de colon sano^{33,34}.

MODELOS EXPERIMENTALES DE FIBROSIS INTESTINAL

A diferencia de lo que ocurre en la colitis experimental, en la que disponemos de un gran número de modelos animales diferentes, hay pocos modelos experimentales específicamente diseñados para reproducir la fibrosis intestinal. Este hecho ha sido una de las principales limitaciones para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento antifibrogénico en el intestino. En el año 2003, Lawrance et al³⁵ describieron un modelo de fibrosis intestinal en el ratón, inducido por la administración intracolónica repetida y en dosis ascendentes del hapteno TNBS. Los autores demostraron el desarrollo de un alto grado de fibrosis intestinal, de forma prácticamente constante, tanto en ratones CD1 como Balbc. Dos años más tarde, Vallance et al³⁶ describieron un nuevo modelo, basado en la transfección de TGF- β 1 al epitelio colónico, mediante un vector administrado en forma de enema. Una vez demostrada la eficacia de la transfección en el epitelio colónico, los autores observaron que a dicha intervención le sigue la aparición de células con fenotipo miofibroblasto y un mayor depósito de colágeno, lo cual conduce a una intensa fibrosis intestinal y, a menudo, a la oclusión intestinal. Además de proporcionar un nuevo modelo experimental, este trabajo demuestra, una vez más, el papel clave que desempeña el TGF- β en la fibrogénesis intestinal.

A diferencia de los modelos previamente mencionados, específicamente diseñados para estudiar la fibrosis intestinal, debe de tenerse en cuenta que en la mayoría de los numerosos modelos de colitis experimental actualmente utilizados (como la colitis inducida por TNBS o por peptidoglicano-polisacárido en la rata), además de las lesiones de tipo inflamatorio hay también un componente, más o menos intenso, de fibrosis intestinal.

TERAPIA ANTIFIBROGÉNICA INTESTINAL

Son relativamente pocos los estudios que han evaluado las posibles estrategias para prevenir o tratar la fibrosis

intestinal. En el primero de ellos, Lawrance et al³⁵ lograron atenuar de forma notable el desarrollo de fibrosis intestinal inducida por TNBS, especialmente cuando los animales fueron pretratados con un oligonucleótido antisentido para la subunidad p65 del factor de transcripción NF- κ B, mientras que el efecto fue algo menor cuando el tratamiento con el oligonucleótido se realizó una vez ya establecida la fibrosis intestinal. En un segundo estudio se ensayó el tratamiento con captopril, un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina, en la colitis inducida por TNBS en la rata. La elección de este fármaco se basa en el hecho de que la angiotensina II ha demostrado ser un factor clave en la fibrogénesis hepática, pulmonar y renal. El pretratamiento con captopril redujo significativamente la fibrosis intestinal que de forma característica presentan los animales 3 semanas después de la administración intracolónica de TNBS. En este estudio se demostró también una clara reducción del TGF- β 1 colónico, lo cual sugiere que el efecto antifibrogénico logrado por el captopril podría estar mediado por este factor³⁷.

Finalmente, en un estudio más reciente, Theiss et al³⁸ demostraron que la administración de hormona del crecimiento tiene un efecto antifibrogénico moderado en el modelo de colitis experimental inducido por la inyección subserosa de peptidoglicano-polisacárido en la rata, sin que se observe, en cambio, ningún efecto antiinflamatorio.

CONCLUSIONES

A pesar de su relevancia clínica, los mecanismos que regulan la fibrogénesis intestinal son todavía muy poco conocidos. Se ha descrito una serie de alteraciones, tanto en el tejido intestinal como en los fibroblastos aislados, que parecen contribuir a la fibrosis del intestino. No obstante, serán necesarios muchos más estudios para comprender mejor la fisiopatología de la fibrosis intestinal y desarrollar estrategias de prevención y tratamiento de esta complicación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis.* 2000;6:8-15.
2. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 2005;19:Suppl A:5-36.
3. Sicilia B, Vicente R, Arroyo MT, Arribas F, Gomollon F. Surgery at follow-up in an incidence cohort of patients with Crohn's disease in Aragon (Spain): etiology, type of surgery and associated epidemiological factors. *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28:105-9.
4. Domenech E, Scala L, Bernal I, Garcia-Planella E, Casalots A, Pinol M, et al. Azathioprine and mesalazine in the prevention of postsurgical recurrence of Crohn's disease: a retrospective study. *Gastroenterol Hepatol.* 2004;27:563-7.
5. Louis E, Collard A, Oger AF, Degroote E, Aboul Nasr El Yafi FA, Belaiche J. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. *Gut.* 2001;49:777-82.

6. Álvarez-Lobos M, Arostegui JI, Sans M, Tassies D, Plaza S, Delgado S, et al. Crohn's disease patients carrying *Nod2/CARD15* gene variants have an increased and early need for first surgery due to stricturing disease and higher rate of surgical recurrence. *Ann Surg*. 2005;242:693-700.
7. Sarem M, Znaidak R, Macias M, Rey R. Hepatic stellate cells: it's role in normal and pathological conditions. *Gastroenterol Hepatol*. 2006;29:93-101.
8. García-Suárez C, Crespo J, Fernández-Gil PL, Amado JA, García-Unzueta MT, Pons Romero F. Plasma leptin levels in patients with primary biliary cirrhosis and their relationship with degree of fibrosis. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:47-50.
9. Abreu MT, Taylor KD, Lin YC, Hang T, Gaiennie J, Landers CJ, et al. Mutations in *NOD2* are associated with fibrostenosing disease in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2002;123:679-88.
10. Radlmayr M, Torok HP, Martin K, Folwaczny C. The c-insertion mutation of the *NOD2* gene is associated with fistulizing and fibrostenotic phenotypes in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2002;122:2091-2.
11. Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJ, Mascheretti S, et al. Association of *NOD2 (CARD 15)* genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. *Lancet*. 2002;359:1661-5.
12. Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JP. Differential effects of *NOD2* variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol*. 2004;99:2393-404.
13. Brand S, Hofbauer K, Dambacher J, Schnitzler F, Staudinger T, Pfennig S, et al. Increased expression of the chemokine fractalkine in Crohn's disease and association of the fractalkine receptor T280M polymorphism with a fibrostenosing disease Phenotype. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:99-106.
14. Graham MF, Diegelmann RF, Elson CO, Lindblad WJ, Gotschalk N, Gay S, et al. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1988;94:257-65.
15. Matthes H, Herbst H, Schuppan D, Stallmach A, Milani S, Stein H, et al. Cellular localization of procollagen gene transcripts in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 1992;102:431-42.
16. Gelbmann CM, Mestermann S, Gross V, Kollinger M, Scholmerich J, Falk W. Strictures in Crohn's disease are characterized by an accumulation of mast cells colocalised with laminin but not with fibronectin or vitronectin. *Gut*. 1999;45:210-7.
17. Koutroubakis IE, Petinaki E, Dimoulios P, Vardas E, Rousso-moustakaki M, Maniatis AN, et al. Serum laminin and collagen IV in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol*. 2003;56:817-20.
18. Dammeier J, Brauchle M, Falk W, Grotendorst GR, Werner S. Connective tissue growth factor: a novel regulator of mucosal repair and fibrosis in inflammatory bowel disease? *Int J Biochem Cell Biol*. 1998;30:909-22.
19. Di Mola FF, Di Sebastiano P, Gardini A, Innocenti P, Zimmermann A, Buchler MW, et al. Differential expression of connective tissue growth factor in inflammatory bowel disease. *Digestion*. 2004;69:245-53.
20. Lawrance IC, Maxwell L, Doe W. Inflammation location, but not type, determines the increase in TGF-beta1 and IGF-I expression and collagen deposition in IBD intestine. *Inflamm Bowel Dis*. 2001;7:16-26.
21. El Yafi F, Winkler R, Delvenne P, Boussif N, Belaiche J, Louis E. Altered expression of type I insulin-like growth factor receptor in Crohn's disease. *Clin Exp Immunol*. 2005;139:526-33.
22. Pucilowska JB, McNaughton KK, Mohapatra NK, Hoyt EC, Zimmermann EM, Sartor RB, et al. IGF-I and procollagen alpha1(I) are coexpressed in a subset of mesenchymal cells in active Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279:1307G-22G.
23. Bailey CJ, Hembry RM, Alexander A, Irving MH, Grant ME, Shuttleworth CA. Distribution of the matrix metalloproteinases stromelysin, gelatinases A and B, and collagenase in Crohn's disease and normal intestine. *J Clin Pathol*. 1994;47:113-6.
24. Heuschkel RB, MacDonald TT, Monteleone G, Bajaj-Elliott M, Smith JA, Pender SL. Imbalance of stromelysin-1 and TIMP-1 in the mucosal lesions of children with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2000;47:57-62.
25. Vaalamo M, Karjalainen-Lindsberg ML, Puolakkainen P, Kere J, Saarialho-Kere U. Distinct expression profiles of stromelysin-2 (MMP-10), collagenase-3 (MMP-13), macrophage metalloelastase (MMP-12), and tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) in intestinal ulcerations. *Am J Pathol*. 1998;152:1005-14.
26. Musso A, Condon TP, West GA, De La Motte C, Strong SA, Levine AD, et al. Regulation of ICAM-1-mediated fibroblast-T cell reciprocal interaction: implications for modulation of gut inflammation. *Gastroenterology*. 1999;117:546-56.
27. Vogel JD, West GA, Danese S, De La Motte C, Phillips MH, Strong SA, et al. CD40-mediated immune-nonimmune cell interactions induce mucosal fibroblast chemokines leading to T-cell transmigration. *Gastroenterology*. 2004;126:63-80.
28. Lawrance IC, Maxwell L, Doe W. Altered response of intestinal mucosal fibroblasts to profibrogenic cytokines in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2001;7:226-36.
29. Strong SA, Pizarro TT, Klein JS, Cominelli F, Fiocchi C. Proinflammatory cytokines differentially modulate their own expression in human intestinal mucosal mesenchymal cells. *Gastroenterology*. 1998;114:1244-56.
30. Simmons JG, Pucilowska JB, Keku TO, Lund PK. IGF-I and TGF-beta1 have distinct effects on phenotype and proliferation of intestinal fibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;283:809G-18G.
31. Masur SK, Dewal HS, Dinh TT, Erenburg I, Petridou S. Myofibroblasts differentiate from fibroblasts when plated at low density. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:4219-23.
32. Stallmach A, Schuppan D, Riese HH, Matthes H, Riecken EO. Increased collagen type III synthesis by fibroblasts isolated from strictures of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1992;102:1920-9.
33. McKaig BC, Hughes K, Tighe PJ, Mahida YR. Differential expression of TGF-beta isoforms by normal and inflammatory bowel disease intestinal myofibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;282:172C-82C.
34. McKaig BC, McWilliams D, Watson SA, Mahida YR. Expression and regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinases by intestinal myofibroblasts in inflammatory bowel disease. *Am J Pathol*. 2003;162:1355-60.
35. Lawrance IC, Wu F, Leite AZ, Willis J, West GA, Fiocchi C, et al. A murine model of chronic inflammation-induced intestinal fibrosis down-regulated by antisense NF-kappa B. *Gastroenterology*. 2003;125:1750-61.
36. Vallance BA, Gunawan MI, Hewlett B, Bercik P, Van Kampen C, Galeazzi F, et al. TGF-beta1 gene transfer to the mouse colon leads to intestinal fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;289:116G-28G.
37. Wengrower D, Zanninelli G, Pappo O, Latella G, Sestieri M, Villanova A, et al. Prevention of fibrosis in experimental colitis by captopril: the role of TGF-beta1. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10:536-45.
38. Theiss AL, Fuller CR, Simmons JG, Liu B, Sartor RB, Lund PK. Growth hormone reduces the severity of fibrosis associated with chronic intestinal inflammation. *Gastroenterology*. 2005;129:204-19.