Өөх тосны бодисын солилцооны алдагдалд хүхэрт устөрөгчийн зохицуулгын гүйцэтгэх үүрэг

Д.Төртүших[1,2], Б.Энхтуул[1], Р.Норовням[1], Х.Дааримаа[1], Б.Баясгалан[1], Д.Энхжаргал[1], Zongmei Wu[2], Manon Buist-Homan[2], Han Moshage[2]
[1]АШУҮИС-ийн Эм зүйн сургууль,
[2]University of Groningen, Netherlands
turtushikh@mnums.edu.mn

Түлхүүр үг
Өөхний чөлөөт хүчлүүд, Архины Бус Шалтгаант Элэг Өөхлөх Өвчин, PPARα

Товч утга
Элэгний гепатоцид эсэд липидын солилцоо алдагдсанаас өөх тос, триглицерид хуримтлагдах, стеатоз, үрэвсэл, фиброз гэх мэт олон шатлал бүхий архаг явцтай өвчин үүсдэг. Хүхэрт устөрөгч (H_2S) нь амьд эсэд нийлэгжиж улмаар бодисын солилцоо, янз бүрийн өвчнүүдэд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг антоксидант, үрэвслийн эсрэг идэвхтэй биологийн идэвхт хийн молекул буюу газотрансмиттер юм. Сүүлийн үеийн судалгаагаар H_2S-ийн бионийлэгжлийн зохицуулга лидийн хуримтлалын үед алдагддаг болох нь судлагдсан боловч H_2S-ийн үзүүлэх молекул биологи нөлөө болон үүрэг тайлбарлагдаагүй байна. Тиймээс бид гепатоцид эс дэх липидийн хуримтлал буюу стеатозизын үед H_2S-ийн үзүүлэх нөлөө болон үүргийг судлахаар зорилоо. Вистар үйлдрийн хархнаас ялган авсан анхдагч гепатоцит эсийг өөхний хүчлүүдээр үйлчлэх замаар өөхний хурамтлал үүсгэв. Өөх тосны зохицуулгад оролцдог генүүд болон уургуудын экспрессийг бх-ПГУ болон Вестерн блот аргуудаар мөн өөх тос болон триглицеридын агууламжийг тус тус тодорхойлов. Судалгааны ажлын үр дүнгээс харахад өөхний хүчлүүд, фиброз идэвхт TGFβ1 нь гепатоцид эсэд H_2S-ийн нийлэгжлийг бууруулж байв. Түүнчлэн гепатоцид эсэд H_2S-ийн бионийлэгжлийг хангадаг ферментүүдийг сонгомлоор дарангуйлахад эсийн өөх тос, триглицеридийн хуримтлал нэмэгдэж байв. Энэ үед липидийн солилцоог зохицуулдаг транскрипцын фактор PPARα (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha) болон түүний бай генүүдийг экспрессүүд болох митохондрийн болон пероксисомын β-исэлдэлтүүдийг хангадаг генүүдийн экспрессийг бууруулж, триглицерид нийлэгжүүлэх генүүдийн экспрессүүдийг тус тус нэмэгдүүлж байв. Дээрх хурилмтлагдсан өөх тос бүхий гепатоцид эсэд H_2S-ийн донороор үйлчлэхэд хуримтлагдсан өөх тос багасаж байв. Дээрх үр дүнгүүд дээр үндэслэн, өөхний чөлөөт хүчлүүд, TGFβ1 нь гетапотиц эсийн стеатозийн үед H_2S-ийн нийлэгжлийг бууруулдаг ба H_2S-ийн бионийлэгжлийг дарангуйлах үед гепатоцид эсэд өөхний хуримтлал PPARα ба түүний бай генүүдийн зохицуулгаар нэмэгддэг болох нь ажиглагдав.

Үндэслэл
Архины бус шалтгаант элэг өөхлөх өвчин (АБШЭӨӨ) нь дэлхийн насанд хүрэгчдийн 20-30%-д хамгийн их тархсан архаг элэгний өвчин юм [1]. Уг өвчний эмгэг жам нь элэгний гепатоцид эсэд өөх тосны бодисын солилцооны зохицуулга алдагдсанаас нөхцөлдсөн өөх тос, триглицерид хуримтлагдах буюу стеатозиз, үрэвсэл, фиброз гэх мэт олон шатлалаас тогтоно. Энэхүү өвчин нь таргалалт, инсулин тэсвэржилт болон 2-р хэлбэрийн чихрийн шижин зэрэг олон өвчинтэй хамтарсан байдлаар тохиолдоно [2]. АБШЭӨӨ үед эсэд өөхний хүчил нэвтрэлт болон шинээр нийлэгжилт буюу De Novo Lipogenesis (DNL) тус тус ихсэж, улмаар өөх тосыг энерги болон хувиргах үүрэгтэй митохондрийн болон пероксисомын β-исэлдэлт багасдаг. Энэхүү үйл ажиллагааг зохицуулдаг эсийн хэд хэдэн систем байдгаас транскрипцийн түвшинд мастер цохицуулагч хэмээгдэг PPARα (Peroxisome Proliferator-

Activated Receptor Alpha) нь голлох үүрэгтэй оролцдог. АБШЭӨӨ үед энэхүү зохицуулга алдагддаг ба улмаар илүүдэл өөхний хүчлүүд нь эндоплазмын ретикулумд триглицерид хэлбэрт шилжин хадгалалтын горимд ордог ба хэт триглицеридийн хуримтлал нь элэг өөхлөх өвчин буюу стеатозын үндэс болдог [3]. Хүхэрт устөрөгч (H_2S) нь амьд эд эсэд нийлэгжиж улмаар бодисын солилцоо, янз бүрийн өвчнүүдэд чухал үүрэгтэй оролцдог, антоксидант, үрэвслийн эсрэг үйлдэлтэй биологийн идэвхт хийн молекул буюу газотрансмиттер юм. H_2S-ийн бионийлэгжлийг эсэд цистатионин гамма лиаза (CTH), цистатионин бетта синтеза (CBS) болон 3-меркаптопируват сулфур трансфераза (MPST) гэсэн 3 энзим голчлон хариуцдаг [4]. Сүүлийн үеийн судалгаагаар АБШЭӨӨ-ний үед H_2S-ийн бионийлэгжил болон түүнийг бионийлэгжилд оролцдог ферментүүдийн зохицуулга алдагддаг болох нь судлагдсан боловч уг өвчний эмгэг жамын үе дэх H_2S-ийн үзүүлэх молекул биологи нөлөө болон үүрэг бүрэн тодорхойлогдоогүй байна[5].

Зорилго, зорилт

Элэгний өөх тосны бодисын солилцооны үндсэн зохицуулагч гепатоцид эс дэх липидийн хуримтлал буюу стеатозизын үед H_2S-ийн үзүүлэх нөлөө болон үүргийг судлахаар зорилоо.

Арга аргачлал

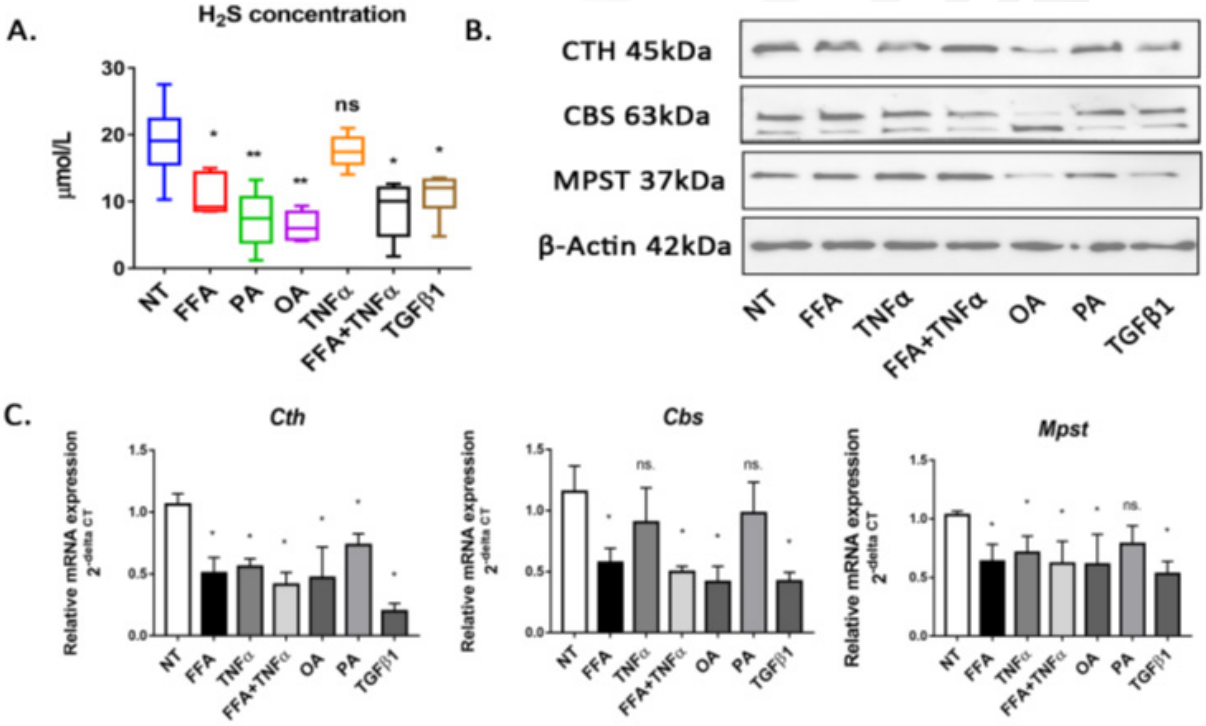
Судалгаанд вистар үүлдрийн эрүүл харханаас анхдагч элэгний гепатоцит эсийг ялган авч амьдрах чадвар 80%-аас дээш тохиолдолд туршилтанд ашиглав. Анхдагч эсэд ханасан болон ханаагүй өөхний хүчлийн 1ммоль/л холимгийг 12 цагийн турш үйлчлэх замаар стеатозын эмгэг загвар үүсгэв. Эсийн дотоод хүхэрт устөрөгчийг (H_2S)-ийг дарангуйлах зорилгоор карбоксиметил гидроксиламин (AOAA) болон H_2S-ийг үйлчлэх зорилгоор түүний донор GYY4137-г тус тус 12-48 цаг эсэд тарив. Эсийн генийн болон уургийн экспрессүүдийг бх-ПГУ болон Вестерн блот аргуудыг ашиглав. Эсэд хурамтлагдсан өөх тосыг ойл-улаан-О (Oil-Red-O) болон триглицеридийг спектрофотометрийн аргуудаар үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тус тус тодорхойлов. Эсийн нийлэгжүүлсэн H_2S-ийн концентрацийг метилен хөх (7-азидо, 4-метилкумарин) будагч бодисоор хэмжив. Амьтан дээр ажиллах ёсзүйн зөвшөөрлийг Гронингений Их Сургуулийн Animal Ethical Committee (DEC) болон бусад холбогдох байгууллагуудаас авсан болно. Үр дүнг хамгийн багадаа 3 удаа давтан хийж, статистик тооцооллыг үл хамааралт Манн-Уитни тест ашиглан үр дүнг дундаж ± стандарт хазайлт (mean ± SD)-ээр илэрхийлэв. $P<0.05$ байх тохиолдолд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байна гэж үзэв.

Үр дүн

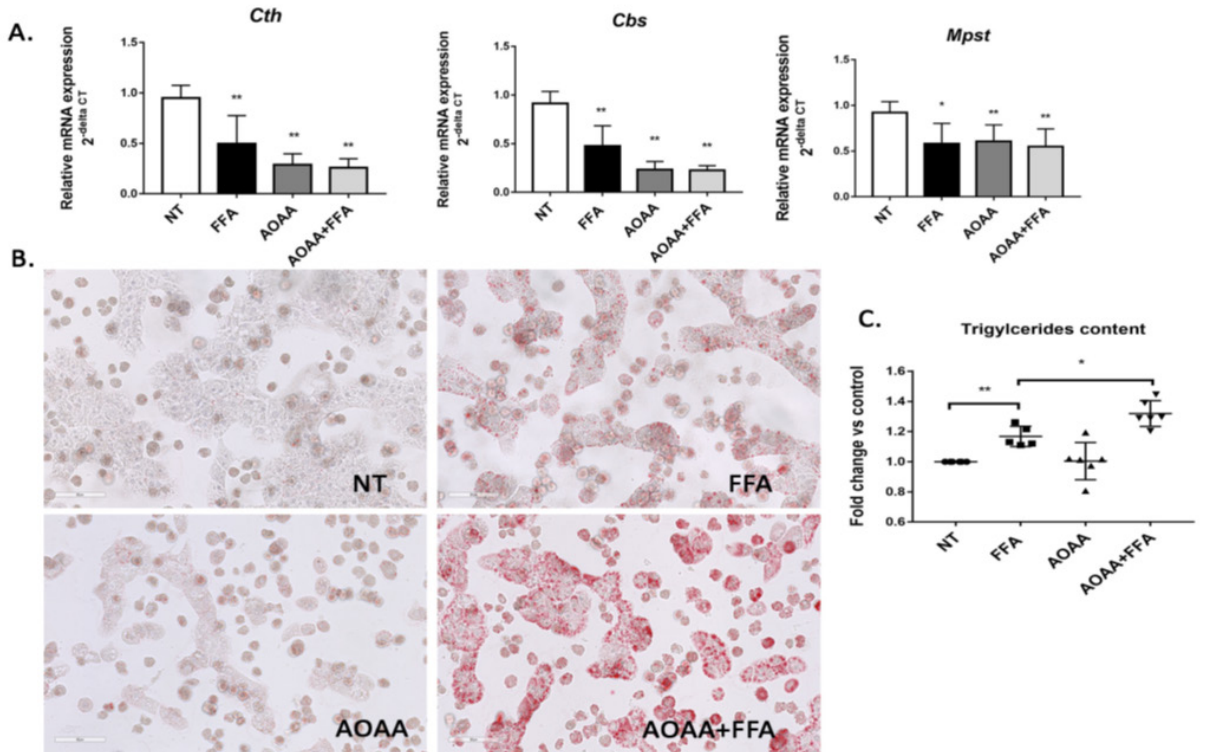
Архины бус шалтгаант элэг өөхлөх өвчин (АБШЭӨӨ)-ний үүсгэгч үндсэн шалтгаанууд болох ханасан (пальмитийн хүчил, C16:0, 0.5ммоль/л) болон ханаагүй өөхний хүчил (олеины хүчил, 18:1, 1ммоль/л), тэдгээрийн холимог 1ммоль/л (PA 2:3 OA), мөн үрэвсэл болон фиброз идэвхт цитокинууд болох TNFα (10нг/мл), TGFβ1 (5нг/мл)-аар тус тус гепатоцит эсэд үйлчилж улмаар хүхэрт устөрөгчийг (H_2S) нийлэгжүүлдэг цистатионин гамма лиаза (CTH), цистатионин бетта синтеза (CBS), 3-меркаптопируват сулфур трансфераза (MPST) энзимүүдын генийн болон уургийн экспрессүүдийг тус тус шалгав. Үр дүнгээс харахад өөхний чөлөөт хүчлүүд болон TGFβ1 нь дээрх энзимүүдийн генийн болон уургын экспрессүүдийг хамгийн хүчтэй дарангуйлж байв (Зураг 1B,C). Мөн ханаагүй олеины хүчил эсийн H_2S-ийн концентрацыг хамгийн хүчтэй бууруулж байв (Зураг 1A).

Эсийн дотоод H_2S-ийн нийлэгжлийг AOAA-ийн тусламжтай дарангуйлахад (Зураг 2A) эсэд липидийн болон триглицеридийн (Зураг 2B,C) хуримтлал тус тус нэмэгдэж байв. Түүнчлэн (Зураг 3B)-т энэхүү өөхний хуримтлалын эсийн транскрипцийн зохицуулагч PPARα (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha) болон түүний бай генүүдийн экспрессүүд болох β-исэлдэлтийг хариуцсан (Cpt1α,Acox1)-ыг тус тус бууруулж байв. Мөн өөх тос шинээр нийлэгжүүлэх De Novo Lipogenesis-ийг (DNL) хариуцсан Ацетил-КоА-карбоксилаза (Acc1)-ыг ихэсгэж, өөх тосыг эсрүү зөөвөрлөх уургыг хариуцсан Cd36 генийн экспрессийг бууруулж (Зураг 3A) байв. Триглицеридийн нийлэгжил хариуцсан диацилглицерол О-ацилтрансфераза 2 (Dgat2), түүний эндоплазмын ретикулумын нийлэгжлийн үеийн стрессийг хэмждэг ДНХ гэмтэлд идэвхждэг транскрипт (Ddit3)-ийн мРНХ-ийн экспрессүүдийг (Зураг 3C)-т тус тус ихэсгэж байв.

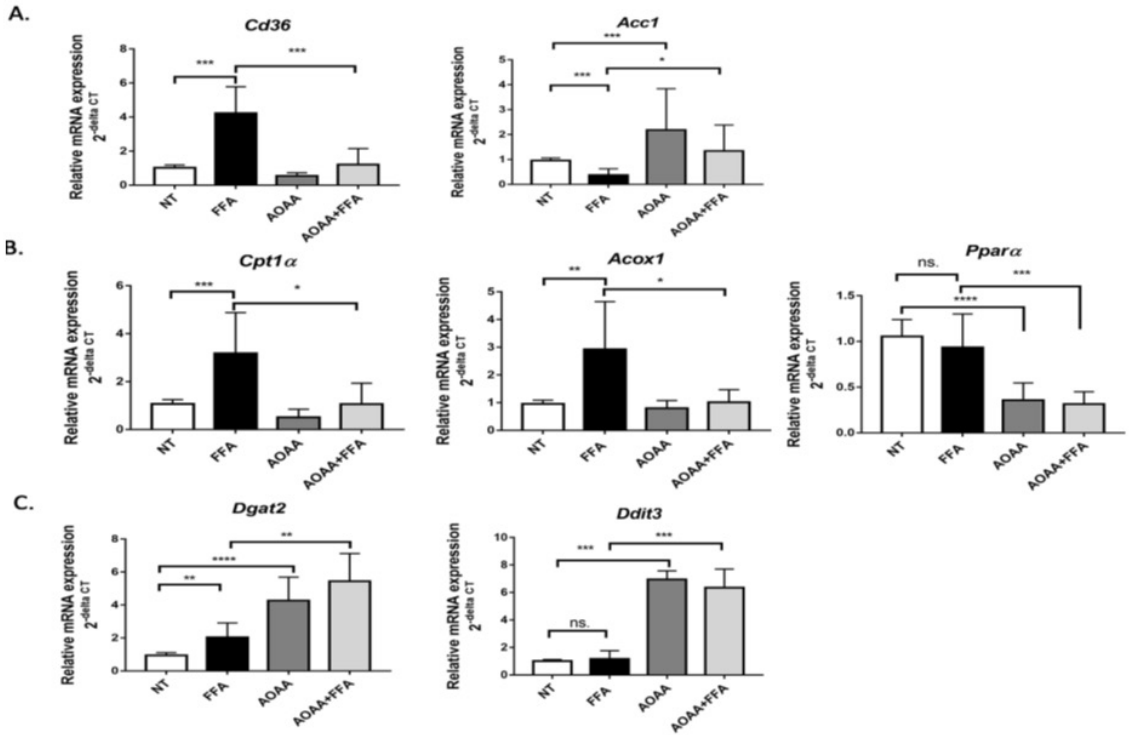
Дээрх эсэд үүссэн өөх тосны хуримтлал нь үнэхээр дотоод H_2S-ийг нийлэгжлийг дарангуйлагдсанаас болсон эсэхийг шалгахын тулд бид H_2S-ийг



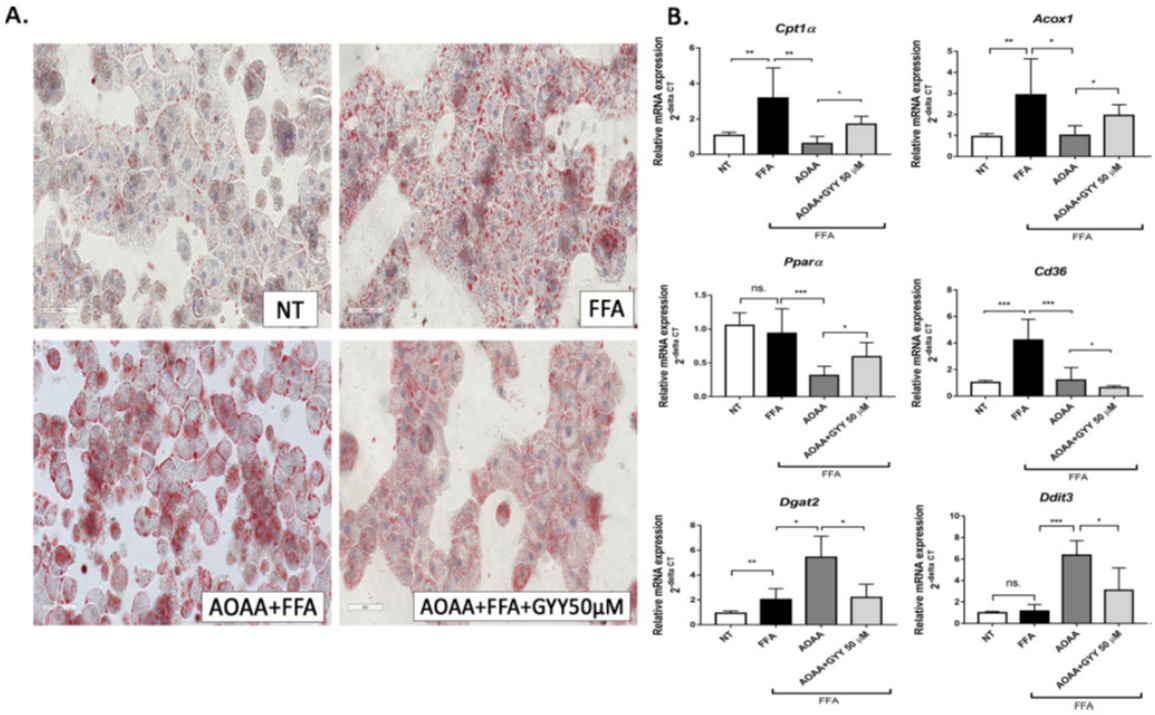
Зураг 1. Өөхний чөлөөт хүчлүүд болон TGFβ1 нь гепатоцид эсийн H_2S-ийн нийлэгжлийг бууруулж байв. A. Эсийн тэжээлт орчинд ялгаруулсан H_2S-ийн концентраци. B,C. H_2S-ийн нийлэгжлийг хариуцах Cth, Cbs, Mpst энзимүүдийн генийн болон уургийн экспрессүүд. FFA-өөхний чөлөөт хүчлүүд, OA-олеины хүчил, PA-палмитын хүчил. NT-эрүүл бүлэг. *P<0.05, **P<0.005.



Зураг 2. Хүхэрт устөрөгчийг дарангуйлахад гепатоцит эсэд липидийн хуримтлал ихсэж байв. A. H_2S нийлэгжүүлэгч энзимүүдийн мРНХ экспресс (Cth, Cbs) болон тэдгээрийг дарангуйлагч AOAA 5 ммоль/л, FFA (өөхний чөлөөт хүчил) 1 ммоль/л 12 цагийн турш үйлчилж өөхний хуримтлал үүсгэв. B, C Өөх тос болон триглицеридийн хуримтлал. NT-эрүүл бүлэг. *P<0.05, **P<0.005.



Зураг 3. Хүхэрт устөрөгчийг дарангуйлахад гепатоцит эсэд β-исэлдэлт багасаж, триглицеридийн нийлэгжил эхсэж байв. А. Өөх тосыг гаднаас зөөвөрлөх болон шинээр өөхний хүчил үүсэлтийг хариуцсан генүүдийн экспресс (Cd36, Acc1). В. Өөхний хүчлийн β-исэлдэлт тэдгээрийг хариуцсан генүүдийн болон транскрипцийн зохицуулагч Pparα (Cpt1α, Acox1). С. Триглицерид болон түүний нийлэгжлийг хариуцсан генүүд (Dgat2, Ddit3). *P<0.05, **P<0.005, ***P<0.001.



Зураг 4. Хуримтлагдсан өөх тосыг хүхэрт устөрөгч бууруулж байв. А. AOAA-р нөхцөлдсөн өөх тосны хуримтлалыг H_2S донор GYY4137 (GYY) бууруулж байв. В. Дарангуйлагдсан H_2S-өөс нөхцөлдөн буурсан β-исэлдэлт түүнийг зохицуулагч генүүд болон триглицерид, эндоплазмын ретикулумын стрессийн маркер генүүдийн мРНХ экспрессүүд. *P<0.05, **P<0.005, ***P<0.001.

хяналттайгаар мөн бага тунгаар ялгаруулдаг донор болох GYY4137-г H_2S-г дарангуйлагч AOAA-тай хамт хэрэглэхэд ихэссэн байсан өөх тосны хуримтлал буурсан байв (Зураг 4А). Мөн β-исэлдэлт түүний транскрипцийн зохицуулагч генүүдийн (Pparα, Cpt1α, Acox1) экспрессүүд статистик ач холбогдол бүхий нэмэгдсэн байв (Зураг 4В).

Хэлцэмж

Бидний судалгааны үр дүнгээс харахад өөхний чөлөөт хүчлүүд болон фиброз идэвхт цитокин TGFβ1 нь эсийн дотоод хүхэрт устөрөгчийн (H_2S) нийлэгжлийг хамгийн идэвхтэйгээр дарангуйлж байв. Мөн H_2S-ийн нийлэгжлийг хариуцдаг энзимүүдийн (CTH, CBS)-г сонгомлоор дарангуйлахад эсэд хуримтлагдсан өөх тос, триглицеридийн хэмжээ ихсэж байв. Энэ үед липидийн β-исэлдэлт буурч, өөхний чөлөөт хүчил шинээр нийлэгжилт (De Novo Lipogenesis) болон триглицеридийн нийлэгжлүүд тус тус нэмэгдэж байсан ба энэ зохицуулга нь липидийн транскрипцийн зохицуулагч PPARα (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha)-аар нөхцөлдөж байв. H_2S-ийн донор GYY4137 дээрх хуримтлагдсан өөх тосыг бага зэрэг боловч статистик ач холбогдол бүхий бууруулж байв. Архины Бус Шалтгаант Элэг Өөхлөх Өвчин (АБШЭӨӨ)-нд H_2S-ийн гүйцэтгэх үүргийн талаар урьд нь хэд хэдэн удаа судлагдсан болов ч тэдгээр үр дүнгүүд нь хоорондоо төсөөгүйгээс гадна эсийн дотоод липидийн солилцоонд орсон өөрчлөлтийг хангалтгүй судалсан нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл болов. Ли нарын судалгаанд өөх тос ихтэй хоол хэрэглэсэн хулганы болон өөхний хүчлүүдээр үйлчилсэн L02 шугаман эсийн H_2S-ийн нийлэгжил хэдийгээр буурсан боловч MPST уургын экпсресс ихсэж байсан ба түүнийг сонгомлоор дарангуйлахад эсэд хуримтлагдсан өөх тос багасч, H_2S-ийн нийлэгжил болон CSE энзимийн уургийн экспресс ихсэж байсан [6]leading to non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD. Пех нарын судлаачдын үр дүнд CBS уургийн экспресс өөх тос ихтэй хоол хэрэглэсэн харханд ихсэж байв [7]. Мөн бусад судалгаануудад метионин холин дутагдалтай хоол болон өөх тос ихтэй хоол хэрэглэсэн туршилтын хулганад H_2S-ийн донор элэгний өөх тосны хуримтлал болон үрэвсэл, антиоксидант, липидийн бодисын солилцоог идэвхжүүлж байгаа үр дүнг тус тус үзүүлж байв [8,9]. Түүнээс гадна зарим судлаачдын үр дүнд H_2S-ийн нийлэгжлийг хариуцдаг CBS, CTH энзимүүдийг сонгомлоор дарангуйлахад элэгэнд хурамтлагдсан өөх тос, холестрол, триглицеридийн хэмжээ ихсэж байв Гэсэн хэдий ч дээрх судалгаануудын ихэнх нь in vivo туршилтууд ба цөөн хэдэн in vitro туршилтын үр дүн нь хавдрын шугаман эс дээр хийсэн байв. Элэгний өөх тосны бодисын солилцоо нь гепатоцид эсийн бөөмийн рецепторуудийн транскрипцийн зохицуулгаар явагддаг. Пероксисом пролифератор идэвхжүүлсэн рецептор альфа (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPARα) болон Стерол зохицуулагч элемент-холбогч уураг (sterol regulatory element-binding protein, SREBP1c) нар нь элэгний липидийн үндсэн зохицуулагч нар юм [3,11]. Зарим судлаачдын үр дүнд CTH, CBS генүүдийг дарангуйлахад туршилтын хулганад өөх тос хуримтлагдаж байсан ба энэ нь SREBP1c-ээр зохицуулагддаг талаар дурьдсан байна [6,8]leading to non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD. H_2S-ийн PPARα рецеторт үзүүлэх нөлөөг судалсан хэд хэдэн судалгаа байна. Гэсэн хэдий ч эдгээр судалгаанууд нь HepG2 хавдрын шугаман эсийн загвар дээр атеросклероз өвчинд үзүүлэх нөлөөг судалсан боловч H_2S нь манай судалгааны үр дүнтэй төсөөтэй буюу PPARα-г идэвхжүүлж байв [12]. PPARα нь транскрипцийн факторын хувьд өөхний хүчлийн β-исэлдэлтийг зохицуулдаг Cpt1, Acox1 генүүдийн экспрессүүдийг удирддаг ба бидний судалгааны дүнд эдгээр генүүдийн дарангуйллаас болж өөх тосны хуримтлал эсэд үүсэж байв. Түүнчлэн өөх тосыг эсрүү нэвтрүүлэх үүрэгтэй Cd36 ген нь мөн адил PPARα-ийн бай ген тул манай үр дүнд түүний экспресс мөн адил буурсан байв [13].

Дүгнэлт

Бидний судалгаагаар эсийн H_2S-ийн зохицуулга нь өөхний бодисын солилцоонд чухал үүрэгтэй бөгөөд түүний алдагдал нь АБШЭӨӨ-ны эмгэг жамд чухал үүрэгтэй байж болох бөгөөд энэхүү үйл ажиллагаа нь транскрипцийн зохицуулагч PPARα-ийн оролцоотой явагддаг бөгөөд H_2S-ийн донор нь магадгүй уг өвчний эсрэг үр дүнтэй эмчилгээ байж болох юм гэсэн дүгнэлтэнд хүрлээ.

Ном зүй

1. *Younossi Z, Tacke F, Arrese M, et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. Hepatology. 2019;69(6):2672-2682. doi:10.1002/hep.30251*
2. *Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and*

meta-analysis. J Hepatol. 2019;71(4):793-801. doi:10.1016/j.jhep.2019.06.021
3. Montagner A, Polizzi A, Fouchй E, et al. Liver PPARα is crucial for whole-body fatty acid homeostasis and is protective against NAFLD. Gut. 2016;65(7):1202-1214. doi:10.1136/gutjnl-2015-310798
4. Herman Anton, Sitdikova Guzel F. Gasotransmitters: Physiology and Pathophysiology. Springer-Verlag Berlin; 2012.
5. Mani S, Cao W, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide and the liver. Nitric Oxide - Biol Chem. 2014;41:62-71. doi:10.1016/j.niox.2014.02.006
6. Li M, Xu C, Shi J, et al. Fatty acids promote fatty liver disease via the dysregulation of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. Gut. Published online 2017:2169-2180. doi:10.1136/gutjnl-2017-313778
7. Peh MT, Anwar AB, Ng DSW, Shirhan Bin Mohamed Atan M, Kumar SD, Moore PK. Effect of feeding a high fat diet on hydrogen sulfide (H2S) metabolism in the mouse. Nitric Oxide - Biol Chem. 2014;41:138-145. doi:10.1016/j.niox.2014.03.002
8. Luo ZL, Tang LJ, Wang T, et al. Effects of treatment with hydrogen sulfide on methionine-choline deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. J Gastroenterol Hepatol. 2014;29(1):215-222. doi:10.1111/jgh.12389
9. Wu D, Zheng N, Qi K, et al. Exogenous hydrogen sulfide mitigates the fatty liver in obese mice through improving lipid metabolism and antioxidant potential. Med Gas Res. 2015;5(1):1-8. doi:10.1186/s13618-014-0022-y
10. Mani S, Li H, Yang G, Wu L, Wang R. Deficiency of cystathionine gamma-lyase and hepatic cholesterol accumulation during mouse fatty liver development. Sci Bull. 2015;60(3):336-347. doi:10.1007/s11434-014-0722-7
11. Varga T, Czimmerer Z, Nagy L. PPARs are a unique set of fatty acid regulated transcription factors controlling both lipid metabolism and inflammation. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis. 2011;1812(8):1007-1022. doi:10.1016/j.bbadis.2011.02.014
12. Li D, Xiong Q, Peng J, et al. Hydrogen sulfide up-regulates the expression of ATP-binding cassette transporter A1 via promoting nuclear translocation of PPARα. Int J Mol Sci. 2016;17(5):6-8. doi:10.3390/ijms17050635
13. Mandard S, Mьller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor α target genes. Cell Mol Life Sci. 2004;61(4):393-416. doi:10.1007/s00018-003-3216-3

The role of hydrogen sulfide in dysregulation of lipid metabolism

Turtushikh.D[1,2], Enkhtuul.B[1], Norovnym.R[1], Daariimaa.Kh[1], Bayasgalan.B[1], Enkhjargal.D[1], Znogmei, Wu[2], Manon Buist-Homan[2], Han Moshage[2]
[1]School of Pharmacy, MNUMS
[2]University of Groningen, Netherlands
turtushikh@mnums.edu.mn

ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a progressive liver disease defined by lipid accumulation as well as metabolic dysregulation and has become one of the most prevalent chronic liver diseases in the world. Hydrogen sulfide (H_2S) is a gaseous signaling molecule that is involved in many (patho)physiological processes. It has anti-oxidant and anti-inflammatory properties and H_2S is enzymatically synthesized in various cell types in the liver. Recently, a role for (disturbed) H_2S metabolism has been proposed in the pathogenesis of NAFLD. However, the exact role of H_2S in NAFLD, in particular in the metabolism of free fatty acids (FFAs) remains to be elucidated. Therefore, the aim of our study was to investigate the effect of free fatty acids on H_2S generation and to investigate the effect of H_2S on fatty acid metabolism. Primary rat hepatocytes, exposed to various FFAs to mimic the early stages of NAFLD (steatosis), were used. H_2S generation by hepatocytes was determined as well as the effect of inhibition of H_2S synthesis, using the pharmacological inhibitor AOAA, on FFA metabolism. FFA metabolism was assessed by measuring lipid accumulation and determining mRNA expression of key enzymes involved in FFA uptake, β-oxidation and triglyceride synthesis. Exposure of hepatocytes to FFAs reduced H_2S generation and expression of H_2S synthesizing enzymes. Inhibition of H_2S generation increased FFA-induced lipid accumulation and triglyceride content in hepatocytes. Furthermore, inhibition of H_2S generation shifted gene expression pattern from β-oxidation to triglyceride synthesis. We conclude that H_2S shifts FFA metabolism from lipid accumulation to β-oxidation. Since FFAs reduce H_2S generation in hepatocytes, the excess FFA flux in NAFLD leads to a metabolic shift from β-oxidation to triglyceride synthesis, thus causing lipid accumulation in hepatocytes.