

Сельскохозяйственный журнал. 2022. № 4 (15). С.128-135
Agricultural journal. 2022; 15 (4). P.128-135

Зоотехния и ветеринария

Научная статья

УДК 636.082.12:636.22/.28.033

DOI: 10.25930/2687-1254/014.4.15.2022

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С КАЧЕСТВОМ МЯСА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (ОБЗОР)

**Анатолий Фoadович Шевхужев, Александр Юрьевич Криворучко,
Владимир Аникеевич Погодаев, Лариса Николаевна Скорых,
Надежда Сергеевна Сафонова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Россия, Ставропольский край, Михайловск.
E-mail: info@fnac.center

Аннотация. Оптимизация производства говядины – очень сложный и трудоемкий процесс, поэтому прогресс в этой области возможен благодаря точности определения племенной ценности животных. В последнее время в мировой селекции происходят значительные изменения, связанные с появлением новых технологий в оценке племенной ценности сельскохозяйственных животных на основе молекулярно-генетических маркеров хозяйственно ценных признаков продуктивности, позволяющих повысить точность оценки и прогнозирования экономически значимых показателей продуктивных животных. Развитие отрасли животноводства многих стран направлено на дальнейшее ускорение селекционного процесса с увеличением производства мяса и улучшением его качества. В обзоре представлены некоторые, ранее описанные, гены-кандидаты для использования в качестве молекулярно-генетических маркеров мясной продуктивности крупного рогатого скота. К настоящему времени многие полиморфизмы в генах проанализированы и установлены ассоциации с количественно-качественными показателями говядины от мясных пород скота. Большинство экономически важных признаков крупного рогатого скота считаются сложными и находятся под влиянием множества генов. Возможности, предлагаемые методами молекулярной биологии, могут быть использованы для анализа целых геномов в поисках полиморфизмов, влияющих на производственные признаки. При учете экономических и производственных тенденций потребления мясопродуктов из говядины высокого класса имеет большое значение применение ДНК-маркеров в программах разведения для выявления высокопродуктивных животных, что будет способствовать повышению рентабельности отрасли скотоводства. В этой связи проявление интереса к исследованиям, направленным на выявление генетического полиморфизма в генах, связанных с формированием количественно-качественных параметров мясной продуктивности крупного рогатого скота является современным и актуальным направлением исследований у разных пород.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, мясная продуктивность, SNP, мио-статин, соматотропин, лептин, кальпаин, кальпаастатин, С-рецептор ретиноевой кисло-

ты, диацилглицеро- ацилтрансферазы-1, стеароил-КоА-десатураза

Для цитирования: Полиморфизм генов, ассоциированных с качеством мяса у крупного рогатого скота (обзор) / А.Ф.Шевхужев, А.Ю.Криворучко, В.А.Погодаев, Л.Н.Скорых, Н.С. Сафонова // Сельскохозяйственный журнал. 2022. № 4 (15). С.128-135. DOI: 10.25930/2687-1254/014.4.15.2022

Zootechny and veterinary science

Original article

POLYMORPHISM OF GENES ASSOCIATED WITH MEAT QUALITY IN CATTLE (REVIEW)

Anatolii F. Shevkhuzhev, Aleksandr Y. Krivoruchko, Vladimir A. Pogodaev, Larisa N. Skorykh, Nadezhda S. Safonova

FSBSI “North Caucasus Federal Agricultural Research Center”, Russia, Stavropol Territory, Mikhailovsk, E-mail: info@fnac.center

Abstract. Optimization of beef production is a very complex and time-consuming process, so progress in this area is possible due to the accuracy of determining the breeding value of animals. Recently, significant changes have been taking place in world selective breeding, which are associated with the advent of new technologies in assessing the breeding value of farm animals based on molecular genetic markers of productivity economic traits, which make it possible to improve the accuracy of assessing and predicting economically relevant characteristics of productive animals. The development of the livestock industry in many countries is aimed at further accelerating of the selective breeding process with an increase in meat production and improvement of its quality. The review presents some of the previously described candidate genes for use as molecular genetic markers of meat productivity in cattle. By now many polymorphisms in genes have been analyzed and associations have been established with quantitative and qualitative indicators of beef from beef cattle. Most of the economic traits in cattle are complex and they are influenced by multiple genes. The possibilities, which are offered by molecular biology methods, can be used to analyze entire genomes in search of polymorphisms that affect productive traits. Considering the economic and production tendencies in the consumption of meat products of high-quality beef, the use of DNA markers in breeding programs to identify highly productive animals is of great importance, which will help increase the profitability of the livestock industry. In this regard, the expression of interest in research, which is aimed at identifying genetic polymorphism in genes associated with the formation of quantitative and qualitative parameters of meat productivity in cattle, is a modern and relevant area of research in different breeds.

Key words: cattle, meat productivity, SNP, myostatin, somatotropin, leptin, calpain, calpastatin, Retinoic Acid Receptor C, Diacylglycerol-Acyltransferase-1, stearyl-CoA-desaturase

For citation: Polymorphism of genes associated with meat quality in cattle (review) / A.F. Shevkhuzhev, A.Y. Krivoruchko, V.A. Pogodaev, L.N. Skorykh, N.S. Safonova // Agricultural journal. 2022; 15 (4). P.128-135. DOI: 10.25930/2687-1254/014.4.15.2022

Введение. Мясная промышленность – один из главных сегментов агропромышленного комплекса. В обеспечении населения белком животного происхождения важная роль отводится мясному скотоводству. Повышение продуктивности является одной из основных задач в животноводстве. Высокая конкурентоспособность современного рынка говядины и растущие потребительские спросы вынуждают производителей обеспечить продукцию самого высокого качества, ведь качество мяса считается важным аспектом не только для перерабатывающей промышленности, но и для потребителей.

Признаки, определяющие привлекательность мяса, рассматриваются на различных уровнях: от химического состава, биохимических параметров сырого мяса и до сенсорных свойств, выступающих результатом сочетания множества факторов, в том числе генетических. Поскольку информация о предрасположенности животного к развитию желательных признаков содержится в ДНК, то данный фактор является наиболее важным, действие которого можно регулировать посредством соответствующей селекционной работы, проводимой в большинстве стран с развитым животноводством.

Использование генетических вариаций, лежащих в основе желаемых фенотипов, – цель сегодняшних производителей животных, однако желательные генетические варианты должны быть известны до возможного применения. Исходя из этого, необходимо проводить поиск генов-кандидатов и установление возможных взаимосвязей с количественно-качественными характеристиками мяса.

Возможности, предлагаемые методами молекулярной биологии, могут быть использованы для анализа целых геномов в поисках полиморфизмов, влияющих на производственные признаки и, следовательно, на рентабельность отрасли животноводства. Такие технологии успешно применяются во многих национальных селекционных программах стран с развитым животноводством, поскольку позволяют осуществлять оценку генотипа в раннем возрасте. Наибольшие успехи достигнуты в молочном и мясном скотоводстве, где выявлено значительное число генов, ассоциированных с молочной продуктивностью, качеством молока и мяса [1, 2], а также у овец, коз, птиц, других видов животных [3, 4, 5].

В классических программах генетического улучшения отбор и оценка животных проводится со знанием только родословной животных. При этом требуется больше времени, чем при анализе генотипа животного, который укажет определенную генетическую предрасположенность животного, и, хотя впечатляющие достижения в эффективности производства говядины достигнуты с использованием традиционных методов отбора, скорость и точность селекции могут быть значительно улучшены за счет получения более глубоких знаний о молекулярной архитектуре генов. Поэтому исследования по выявлению полиморфизма в генах, связанных с формированием количественно-качественных параметров мышечной и жировой ткани мясного скота, являются актуальными [6, 7].

Для генотипирования животных применяется все более широкий спектр методов: от методов, основанных на амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР-ПДРФ), с помощью секвенирования по Сэнгеру до высокопроизводительных методов секвенирования следующего поколения (NGS). Некоторые признаки находятся под контролем только одного гена, в то время как другие оказывают влияние на большее количество взаимосвязанных физиологических процессов, контролируемых целым комплексом генов.

Общегеномные исследования ассоциаций (GWAS) возможны благодаря наличию технологии, позволяющей проводить высокопроизводительное генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Эти SNP – генетические варианты или аллели в последовательности ДНК, которые могут быть связаны с характеристиками продуктивности у крупного рогатого скота.

Выявление однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) позволило установить их связь с такими характеристиками мяса, как выход мышечной массы (MSTN), нежность и цвет мяса (CAPN, CAST), мраморность (RORC, DGAT1, LEP, GH), pH и водоудерживающая способность (SCD).

Одним из наиболее перспективных генов, влияющих на показатели мясной продуктивности, считается ген миостатин (*MSTN*), стимулирующий рост мышечной массы за счет ингибирования активации клеток-сателлитов, тем самым обеспечивая торможение развития мышечных тканей. Изменения в последовательности гена, влекущие нефункциональные продукты экспрессии, приводят к чрезмерному росту мышечной ткани. Исследование, проведенное Casas E. et al. (1998) [8], обнаружило, что животные, унаследовавшие вариацию аллелей mh от родительской формы бельгийского голубого скота, имели большую площадь длиннейшей мышцы, но меньшее внутримышечное отложение жира по сравнению с животными других аллелей.

Гормон роста (*GH*) является маркерным геном мясной продуктивности скота, поскольку может ускорять метаболизм и способствовать росту многих органов и тканей, стимулируя поступление аминокислот в клетку, чем существенно повышает скорость синтеза белка вне зависимости от транспорта аминокислот (ускоренный синтез РНК на рибосомах). Также установлена связь SNP в экзоне 5 гена *GH* (*Leu127Val*) с признаками роста и отложением жира у крупного рогатого скота [9].

Carro et al. (2000) [10] в исследовании выявили связь повышения или снижения уровня секреции соматотропина с выработкой гена лептина и возможность его связывания с белками гена гормона роста.

Лептин (*LEP*) можно рассматривать как один из лучших биологических маркеров, отражающих упитанность туши. *LEP* – белковый гормон, образуется преимущественно адипоцитами и регулирует потребление пищи, энергетический метаболизм, воспроизводство и иммунные реакции. Полиморфизмы в гене *LEP* крупного рогатого скота были связаны с качеством мяса и характеристиками туши у мясного скота, с количеством потребляемого корма. В исследованиях F.C. Buchanan et al. (2002) [11] SNP в экзоне 2 (Arg → Cys) гена *LEP* ассоциировано с уровнем жира в туше крупного рогатого скота (аллель T связан с полнотой туши, аллель C – с длиной туши).

Кальпаин (CAPN) кодирует внутриклеточные активированные кальцием цистеиновые протеазы, участвующие в физиологических и патологических процессах; отвечает за ремоделирование белков, поддерживающих структуру скелетной мышцы.

Так, наличие в генотипе крупного рогатого скота аллеля С гена CAPN1-С отличалось большим содержанием в мясе жира и белка, что повышает калорийность продукта [2].

Кальпастатин (CAST) вместе с кальпаином участвует в протеолизе миофибриллярных белков во время созревания мяса, ингибирует активность μ - и m -кальпаинов и, следовательно, регулирует посмертный протеолиз. Гены CAPN и CAST (кальпастатин-кальпаиновый каскад) кодируют протеолитические ферменты, которые активны в присутствии ионов кальция и участвуют в расщеплении белков, состоящих из миофибрилл. Генетические различия в последовательностях генов CAST, CAPN3 и μ CAPN обычно связаны, не понижая других важных характеристик мяса, с вариабельностью генотипов, приводящих к фенотипическому эффекту с лучшими параметрами нежности [12].

Стеарил-КоА десатураза (ген SCD) представляет собой фермент, участвующий в превращении насыщенных жирных кислот в ненасыщенные в адипоцитах млекопитающих (путем введения двойной связи). Поскольку для жвачных животных ненасыщенные жирные кислоты, поступающие с кормом, обрабатываются микроорганизмами в рубце и адсорбируются в виде насыщенных, то это является ключевым фактором метаболизма липидов в организме животного. При недостатке этого фермента происходит снижение содержания жира в тканях и липидного барьера кожи [13].

Ген диацилглицеро-ацилтрансферазы-1 (DGAT1) – важный микросомальный фермент, поскольку катализирует последнюю стадию синтеза триглицеридов. Роль гена DGAT1 в липидном обмене заключается в участии фермента в процессе преобразования углеводов в жиры и хранения их в жировых депо. Также обнаружено влияние гена DGAT1 на энергетический баланс тела, метаболические функции крови, мягкость мяса [14].

Ассоциации мраморности мяса могут быть связаны с геном С-рецептора ретиноевой кислоты (RORC), активно экспрессирующимся в скелетных мышцах. С-рецептор ретиноевой кислоты относится к семейству рецепторов тироидных и стероидных гормонов щитовидной железы и связывает как ретиноевую кислоту, так и тироидные гормоны. Однонуклеотидные замены в гене RORC изучены у животных с высокой степенью мраморности мяса (японский черный скот), и установлены две однонуклеотидные замены (SNP), ассоциированные с высокой степенью данного признака [15].

Заключение. В связи с вышеизложенным проявление интереса к исследованиям, направленным на выявление генетического полиморфизма в генах, связанных с формированием количественно-качественных параметров мясной продуктивности крупного рогатого скота, является современным и актуальным направлением исследований у разных пород, поэтому целесообразно продолжить поиск новых генов-маркёров, ассоциированных с хозяйственно ценными признаками мясного скота.

Список источников

1. VanRaden P.M., Sullivan P.G. International genomic evaluation methods for dairy cattle // *Genet. Sel. Evol.*, 2010. №42. С.7. doi: 10.1186/1297-9686-42-7.
2. Плахтюкова В., Селионова М. Влияние генотипов CAPN1 и GH на показатели мясной продуктивности казахской белоголовой крупного рогатого скота // *Международная научная конференция «Фундаментальные и прикладные научные исследования в развитии сельского хозяйства на Дальнем Востоке»*. Спрингер, Чам, 2021. С. 121.
3. Геномная селекция в овцеводстве / М.И. Селионова, Л.Н. Скорых, И.О. Фомина, Н.С. Сафонова // *Сельскохозяйственный журнал*, 2017. Т. 1. №. 10. С. 275–280.
4. Исследование полиморфизма генов гормона роста, лептина у овец породы советский меринос / М.И. Селионова, Д.А. Ковалев, Л.Н. Скорых, Н.С. Сафонова, Н.И. Ефимова // *Вестник АПК Ставрополя*, 2019. №. 3. С. 25–29.
5. Полиморфизм гена соматотропина (GH) у овец породы советский меринос / Н.С. Сафонова, Д.А. Ковалев, Л.Н. Скорых, Н.И. Ефимова, А.М. Жиров // *Главный зоотехник*, 2019. №. 6. С. 25–31.
6. Новые подходы к производству говядины на основе современных биоинженерных технологий / И.Ф. Горлов, В.И. Левахин, Д.А. Ранделин, А.К. Натыров, Б.К. Болаев, О.А. Суторма // *Калмыцкий государственный университет. Элиста: Калмыцкий государственный университет имени Б.Б. Городовикова*, 2015. 250 с.
7. GH and DGAT1 gene polymorphism effect on beef production traits of Hereford and Limousine bull calves / Т.А. Sedykh, Е.А. Gladyr, R.S. Gizatullin, I.V. Gusev, I.Y. Dolmatova, L.A. Kalashnikova // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2017. Т. 8. №. 1. С. 1425-1435.
8. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle / E. Casas, J.W. Keele, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, T.S. Sonstegard, T.P.L. Smith et al. // *Journal of Animal Science*, 1998. Т. 76. №. 2. С. 468-473.
9. Effects of GH gene polymorphism and sex on carcass traits and fatty acid compositions in Japanese Black cattle / A. Ardiyanti, Y. Oki, Y. Suda, K. Suzuki, K. Chikuni, Y. Obara, K. Katoh // *Anim. Sci. J.* 2009. №80. p.62–69.
10. Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain / E. Carro, J. L. Trejo, S. Busiguina, I. Torres-Aleman // *Journal of Neuroscience*, 2000. Т. 20. №. 8. С. 2926-2933.
11. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels / F.C. Buchanan, C.J. Fitzsimmons, A.G. Van Kessel, T.D. Thue, D.C. Winkelmann-Sim, S.M. Schmutz // *Genet. Sel. Evol.*, 2002. №34. С. 105–116.
12. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 1. Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics / L.M. Cafe, B.L. McIntyre, D.L. Robinson, G.H. Geesink, W. Barendse, P.L. Greenwood // *Journal of Animal Science*, 2010. №88. С. 3047–3058.
13. Associations of polymorphisms in bovine DGAT1, FABP4, FASN, and PPARGC1A genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls / L. Bartoň, D. Bureš, T. Kott, D. Řehák // *Meat Sci*, 2016. № 114. С. 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.004>
14. Genes related to economically important traits in beef cattle / C. d'Andre Hirwa, P. Wallace, X. Shen, Q. Nie, G. Yang, X. Zhang // *Asian J Anim Sci*, 2011, №5. С. 34-45. <https://doi.org/10.3923/ajas.2011.34.45>
15. Oh D.Y., Lee Y.S., Yeo J.S. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism)

of the stearoyl-CoA desaturase (SCD) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo (Korean cattle) // *Asian-Australas J Anim Sci*, 2011. №24. C.57-65. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10410>

References

1. VanRaden P.M., Sullivan P.G. International genomic evaluation methods for dairy cattle // *Genet. Sel. Evol*, 2010. №42. C.7. doi: 10.1186/1297-9686-42-7.
2. Plakhtyukova V., Selionova M. Influence of CAPN1 and GH genotypes on meat productivity indicators of Kazakh white-headed cattle // *International Scientific Conference "Fundamental and applied scientific research in the development of agriculture in the Far East"*. Springer, Cham, 2021. p. 121
3. Genomic selection in sheep breeding / M.I. Selionova, L.N. Skorykh, I.O. Fominova, N.S. Safonova // *Agricultural Journal*, 2017. Vol. 1. no. 10. pp. 275-280.
4. Investigation of polymorphism of genes of growth hormone, leptin in Soviet merino sheep / M.I. Selionova, D.A. Kovalev, L.N. Skorykh, N.S. Safonova, N.I. Efimova // *Bulletin of Agroindustrial complex of Stavropol*, 2019. No. 3. pp. 25-29.
5. Polymorphism of the somatotropin (GH) gene in Soviet merino sheep / N.S. Safonova, D.A. Kovalev, L.N. Skorykh, N.I. Efimova, A.M. Zhirov // *Chief Zootechnik*, 2019. No. 6. pp. 25-31.
6. New approaches to beef production based on modern bioengineering technologies / I.F. Gorlov, V.I. Levakhin, D.A. Randelin, A.K. Natyrov, B.K. Bolaev, O.A. Sutorma // *Kalmyk State University*. Elista: Kalmyk State University named after B.B. Gorodovikov, 2015. 250p.
7. GH and DGAT1 gene polymorphism effect on beef production traits of Hereford and Limousine bull calves / T.A. Sedykh, E.A. Gladyr, R.S. Gizatullin, I.V. Gusev, I.Y. Dolmatova, L.A. Kalashnikova // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2017. T. 8. №. 1. C. 1425-1435.
8. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle / E. Casas, J.W. Keele, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, T.S. Sonstegard, T.P.L. Smith et al. // *Journal of Animal Science*, 1998. T. 76. №. 2. C. 468-473.
9. Effects of GH gene polymorphism and sex on carcass traits and fatty acid compositions in Japanese Black cattle / A. Ardiyanti, Y. Oki, Y. Suda, K. Suzuki, K. Chikuni, Y. Obara, K. Katoh // *Anim. Sci. J.* 2009. №80. p.62–69.
10. Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain / E. Carro, J. L. Trejo, S. Busiguina, I. Torres-Aleman // *Journal of Neuroscience*, 2000. T. 20. №. 8. C. 2926-2933.
11. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels / F.C. Buchanan, C.J. Fitzsimmons, A.G. Van Kessel, T.D. Thue, D.C. Winkelman-Sim, S.M. Schmutz // *Genet. Sel. Evol*, 2002. №34. C. 105–116.
12. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 1. Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics / L.M. Cafe, B.L. McIntyre, D.L. Robinson, G.H. Geesink, W. Barendse, P.L. Greenwood // *Journal of Animal Science*, 2010. №88. C. 3047–3058.
13. Bartoň L. Associations of polymorphisms in bovine DGAT1, FABP4, FASN, and PPARGC1A genes with intramuscular fat content and the fatty acid composition of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls / L. Bartoň, D. Bureš, T. Kott, D. Řehák // *Meat Sci*, 2016. № 114. C. 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.004>
14. Genes related to economically important traits in beef cattle / C. d'Andre Hirwa, P. Wal-

lace, X. Shen, Q. Nie, G. Yang, X. Zhang // Asian J Anim Sci, 2011, №5. С. 34-45. <https://doi.org/10.3923/ajas.2011.34.45>

15. Oh D.Y., Lee Y.S., Yeo J.S. Identification of the SNP (single nucleotide polymorphism) of the stearoyl-CoA desaturase (SCD) associated with unsaturated fatty acid in Hanwoo (Korean cattle) // Asian-Australas J Anim Sci, 2011. №24. С.57-65. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10410>

Информация об авторах

А.Ф. Шевхужев – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, тел. 8 962 4394555, e-mail: shevkhuzhevaf@yandex.ru

А.Ю. Криворучко – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, тел.: 8(8652)71-70-33, e-mail: rcvm@yandex.ru

В.А. Погодаев – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, тел. 8 918 7858525, e-mail: pogodaev_1954@mail.ru

Л.Н. Скорых – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, тел.: 8(8652)71-81-55, mail: smu.sniizhk@yandex.ru

Н.С. Сафонова – младший научный сотрудник, тел.: +79187507221, e-mail: safonova-nadezhda-s@yandex.ru

Information about the author

A.F. Shevkhuzhev – Chief Researcher, tel. 8 962 4394555, e-mail: shevkhuzhevaf@yandex.ru

A.Y. Krivoruchko – Chief Researcher, tel. 8(8652)71-70-33, e-mail: rcvm@yandex.ru

V.A. Pogodaev – Chief Researcher, tel. 8 918 7858525, e-mail: pogodaev_1954@mail.ru

L.N. Skorykh – Chief Researcher, tel. 8(8652)71-81-55, e-mail: smu.sniizhk@yandex.ru

N.S. Safonova – junior research assistant, tel. +79187507221, e-mail: safonova-nadezhda-s@yandex.ru

Вклад авторов: Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Authors' contribution: All authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication. The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 15.11.2022; одобрена после рецензирования 30.11.2022; принята к публикации 17.12.2022.

The article was submitted 15.11.2022; approved after reviewing 30.11.2022; accepted for publication 17.12.2022.