

Peran *Small Dense Low Density Lipoprotein* Terhadap Penyakit Kardiovaskular

Phey Liana

Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya,
Jl. Moh. Ali Komp RSMH, Palembang, 30126, Indonesia

pheyliana@yahoo.com

Abstrak

Penyakit Kardiovaskular (PKV) menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Karena itu, penting dilakukan identifikasi dini berbagai faktor risiko yang berperan dalam PKV. *Low density lipoprotein-cholesterol* (LDL-C) merupakan salah satu faktor risiko mayor PKV. *Small dense-Low density lipoprotein* (sd-LDL) yang merupakan LDL berukuran kecil dan padat (diameter <25.5 nm dan densitas 1.044-1.063 g/mL) dan terbentuk bila terdapat hipertrigliseridemia (>1.5 mmol/L atau > 120mg/dL). Sd-LDL dikenal sebagai LDL aterogenik karena mudah masuk ke dinding arteri dan teroksidasi. Sd-LDL mempunyai afinitas rendah terhadap reseptor LDL akibatnya lebih lama dalam sirkulasi. Selain itu, sd-LDL juga dapat menyebabkan disfungsi endotel. Kadar sd-LDL plasma dapat diperiksa dengan metode GGE, ultrasentrifugasi, PAGE, presipitasi, *homogeneous* dan rasio K-LDL/ApoB. *Direct homogeneous assay* merupakan metode sederhana terbaru yang dapat dikerjakan sebagai pemeriksaan rutin dan mengukur sd-LDL secara kuantitatif dibandingkan metode lain.

Kata kunci: *penyakit kardiovaskular, sd-LDL, aterogenik*

Abstract

Cardiovascular disease (CVD) remains the main cause of morbidity and mortality. Therefore, the earlier identification of CVD risk factors is important. Low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) is one of the major CVD risk factors. Small dense-Low density lipoprotein (sd-LDL) which is smaller size dan dense LDL particle (diameter <25.5 nm and densitas 1.044-1.063 g/mL), occur in hipertriglyceridemia condition (>1.5 mmol/L or >120 mg/dL). Sd-LDL was known as the atherogenic lipoprotein because it is easier entry to arterial wall and greater succceptibility tooxidation. Sd- LDL have low affinity to LDL-receptor so they have longer residence time in circulation. Futhermore, sd-LDL also cause endothelial cell disfunction. Sd-LDL level in plasma can be measured by gradient gel electrophoresis, ultracentrifugation, polyacrylimade gel electrophoresis, precipitation, homogeneous methods and K-LDL/ApoB ratio. Direct homogeneous assay is the simple new method, which can be used as a routine examination and measured sd-LDL quantitatively compared to other methods.

Keywords: *cardiovascular disease, sd-LDL, atherogenic*

1. Pendahuluan

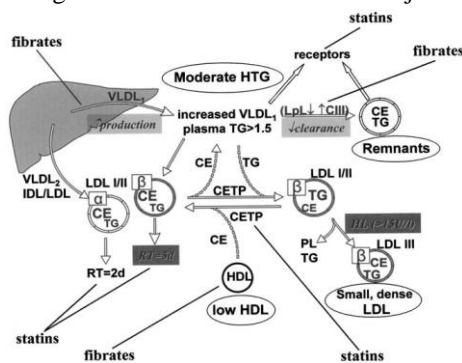
Penyakit kardiovaskular (PKV) dilaporkan masih menjadi penyebab terbesar kematian orang Amerika baik pada pria maupun wanita. Setiap 25 detik terjadi penambahan satu orang Amerika yang menderita penyakit koroner dan setiap satu menit, seseorang akan meninggal karenanya.¹ Di Indonesia, berdasarkan Survei Kesehatan Rumah tangga (SKRT) yang dilakukan secara berkala oleh Departemen Kesehatan menunjukkan penyakit kardiovaskular memberi kontribusi sebesar 19.8% dari seluruh penyebab kematian pada tahun 1993 dan meningkat menjadi 26.4% pada tahun 2001.²

Penyakit kardiovaskular yang mengancam jiwa terjadi karena komplikasi aterosklerosis. Berbagai studi epidemiologi telah dilakukan dan didapatkan beragam faktor risiko yang dikaitkan dengan aterosklerosis seperti faktor usia, genetik, dislipidemia, merokok, diabetes mellitus hingga inflamasi.³ Dislipidemia dapat meliputi peningkatan kadar kolesterol total, kadar kolesterol *Low-density lipoprotein* (kolesterol-LDL), dan trigliserida serta penurunan kadar kolesterol *high-density lipoprotein* (kolesterol-HDL).

Kadar kolesterol-LDL serum tinggi merupakan faktor risiko mayor penyakit kardiovaskular. Partikel LDL merupakan lipoprotein dominan aterogenik.⁴ Heterogenitas partikel LDL dalam hal ukuran, densitas dan komposisi berperan dalam aterogenesis. Dari penelitian, didapatkan LDL berukuran kecil dan padat (*small dense LDL*) lebih aterogenik dari pada LDL berukuran besar dan ringan (*large buoyant LDL*) karena LDL yang berukuran kecil dan padat lebih mudah masuk ke dinding arteri dan teroksidasi.⁵ Selain itu, sd-LDL juga mempunyai afinitas yang rendah terhadap reseptor LDL sehingga waktu paruhnya lebih lama di sirkulasi. Karena besarnya peran sd-LDL dalam aterosklerosis, *National Cholesterol Education Program* (NCEP) menyatakan sd-LDL sebagai faktor risiko kardiovaskular yang baru muncul (*emerging*).⁶ Mengingat besarnya kontribusi sd-LDL dalam penyakit kardiovaskular, maka dalam makalah ini akan dibahas mekanisme pembentukan, aterogenitas dan pemeriksaan terkait dengan sd-LDL.

2. Pembahasan

Mekanisme pembentukan sd-LDL. Pembentukan sd-LDL terjadi karena gangguan metabolisme lipoprotein seperti pada obesitas, diabetes mellitus dan sindroma metabolik. Faktor predisposisi utama adalah terjadinya hipertrigliseridemia ringan sampai berat, yaitu kadar trigliserida plasma > 1.5 mmol/L (120 mg/dL). Akibatnya hati menghasilkan VLDL berukuran besar yang kaya trigliserida. VLDL ini menghasilkan LDL yang kaya trigliserida. Selain itu, melalui kerja *Cholesterol ester transfer protein* (CETP), sejumlah trigliserida dari VLDL akan ditukar dengan ester kolesterol dari LDL sehingga LDL yang dihasilkan semakin kaya akan trigliserida. LDL yang kaya trigliserida ini merupakan substrat yang disenangi oleh *hepatic lipase* sehingga dihidrolisis trigliseridanya dan menghasilkan LDL yang lebih kecil dan padat yang dikenal dengan sd-LDL (Gambar 1).⁷⁻⁹ Sd-LDL mengandung lebih sedikit kolesterol dan fosfolipid tapi lebih banyak trigliserida dibandingkan LDL normal akibat dari kerja CETP.¹⁰



Gambar 1. Proses pembentukan small dense LDL⁷

Aterogenitas sd-LDL. Adanya sd-LDL-C dikaitkan dengan peningkatan risiko Penyakit jantung koroner. Pada *Quebec Cardiovascular Study*, 2103 orang diikuti

selama 5 tahun dan didapatkan sd-LDL berkaitan secara bermakna dengan PJK dengan rasio odds sebesar 3.6 ($p < 0.01$). Setelah dilakukan analisis multivariat dengan menyingkirkan faktor risiko lain seperti trigliserida, ApoB dan kolesterol-HDL, rasio odds menjadi 2.5 ($p < 0.08$).¹¹

Pada *Physicians Health Study* melibatkan 266 pria dengan PJK fatal maupun non-fatal yang diikuti selama 7 tahun dan didapatkan adanya perbedaan bermakna sd-LDL antara kasus dan kontrol ($p < 0.001$) dan risiko relatif sebesar 1.38. Austin dkk mendapatkan pasien dengan predominant sd-LDL mempunyai risiko tiga kali lipat terserang infark miokard. Griffin BA, dkk mendapatkan bahwa bila kadar sd-LDL > 100 mg/dL maka risiko relatif terjadinya PJK sebesar 4.5 dan terjadinya Infark miokard sebesar 7.¹²⁻¹⁴

Beberapa alasan dapat dikemukakan sehubungan dengan sifat sd-LDL yang aterogenik tersebut. Sd-LDL lebih mudah diambil oleh jaringan arteri dibandingkan LDL biasa, menunjukkan adanya peningkatan trans-endothelial transpor. Sd-LDL mempunyai afinitas yang rendah terhadap reseptor LDL akibat perubahan konformasi ApoB akibatnya sd-LDL lebih lama dalam sirkulasi. Sebaliknya sd-LDL lebih mudah terikat dengan proteoglikan pada dinding arteri. Sd-LDL lebih mudah teroksidasi sehingga dapat menyebabkan pembentukan sel busa. Selain itu, sd-LDL dapat menyebabkan disfungsi endotel dengan menghambat *endothelium-dependent vasodilatation* dan sintesis nitrogen monoksida serta induksi ekspresi molekul adhesif.^{7,10,15-18}

Pemeriksaan laboratorium *small dense-low density lipoprotein-cholesterol* (sd-LDL-C). Sd-LDL-C dapat diperiksa dengan berbagai metode sebagai berikut:

A. Elektroforesis Gel Gradien

Elektroforesis gel gradien [*Gradien Gel Electrophoresis* (GGE)] merupakan metode pemeriksaan untuk mengukur subfraksi LDL dengan menggunakan gel poliakrilamida nondenaturasi 2-16%. GGE memisahkan subfraksi LDL berdasarkan ukuran partikel dalam medan listrik.¹⁹

Sampel plasma dielektroforesis pada gel poliakrilamida, kemudian gel tersebut diwarnai (*staining*) untuk lipid dengan oil-red O dalam 5% etanol semalam. Lalu dilakukan pencucian (*destaining*) dengan larutan etanol 45% dan ukuran gel dipertahankan dengan asam asetat 5% selama semalam. Hasil dibaca diidentifikasi dengan *densitometric scan* pada panjang gelombang tertentu.¹⁸ Dengan metode ini, LDL dibagi menjadi dua subklas yaitu LDL pola A dengan predominant LDL berukuran besar dan ringan (diameter rerata > 25.5 nm) dan LDL pola B dengan predominant LDL berukuran kecil dan padat (diameter rerata < 25.5 nm).^{5,15,19} Austin, dkk menyatakan sekitar 30% dari populasi mempunyai LDL pola B, sisanya (70%) mempunyai LDL pola A.

Keuntungan GGE adalah mudah didapat (tersedia) sehingga dapat digunakan secara luas, sampel yang dibutuhkan hanya setetes plasma/serum dan banyak sampel dapat dikerjakan sekaligus. Selain itu, metode pemeriksaan ini sudah banyak divalidasi dengan ultrasentrifugasi. Metode ini mempunyai kekurangan, yaitu bahwa pemeriksaan ini tidak mengukur kadar sd-LDL-C, hanya memberikan ukuran LDL yang dominan sehingga tidak dapat mengetahui potensi aterogenik secara kesatuan. Pemeriksaan dengan GGE juga membutuhkan waktu yang cukup lama dibandingkan pemeriksaan lain.^{10,15,19}

B. Ultrasentrifugasi

Ultrasentrifugasi merupakan baku emas pemeriksaan subfraksi LDL. Ada dua jenis ultrasentrifugasi yaitu ultrasentrifugasi sekuensial dan ultrasentrifugasi densitas gradien. Ultrasentrifugasi sekuensial memisahkan LDL menjadi dua subfraksi yaitu LDL besar ringan (densitas=1.019-1.044 g/mL) dan LDL kecil padat (densitas=1.044-1.063 g/mL).¹⁹

Sampel berupa serum dicampur dengan larutan berdensitas 1.045 kemudian diultrasentrifugasi (80.000 rpm) selama 7 jam pada suhu 16°C. setelah dibuang supernatan yang mengandung lipoprotein berdensitas < 1.019, tambahkan larutan berdensitas 1.094 pada infranatan dan diultrasentrifugasi (100.000 rpm) selama 23 jam. LDL besar ringan (d=1.019-1.044 g/mL) terdapat pada supernatan dan dibuang. Lalu tambahkan larutan berdensitas 1.101 pada infranatan dan diultrasentrifugasi (80.000 rpm) selama 22 jam. Akhirnya diperoleh sd-LDL (d=1.044-1.063 g/mL) pada supernatan dan diperiksa kadarnya.¹⁹

Ultrasentrifugasi densitas gradien digunakan untuk mengetahui kecepatan flotation LDL dan distribusi densitas kolesterol lipoprotein. Mula-mula dibuat lapisan discontinuous, dengan bagian atas berupa NaCl (d=1.006) dan bagian bawah berupa plasma (d=1.08).

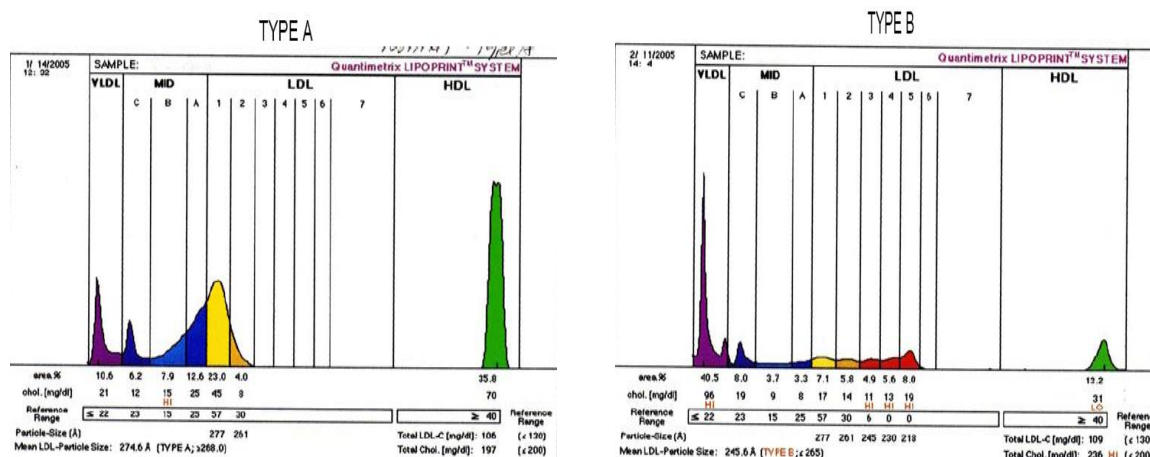
Kemudian disentrifus pada 65.000 rpm selama 70 menit pada 10°C pada vertical rotor. Kemudian fraksi dikumpulkan dari bagian bawah tabung sentrifus dan kadar kolesterol tiap fraksi diukur.¹⁹ Ultrasentrifugasi densitas gradien memisahkan LDL menjadi 3 subfraksi, yaitu LDL I dengan densitas 1.020-1.035 g/mL, LDL II dengan densitas 1.035-1.045 g/mL dan LDL III dengan densitas 1.045-1.060 g/mL. LDL III dikenal dengan sd-LDL.

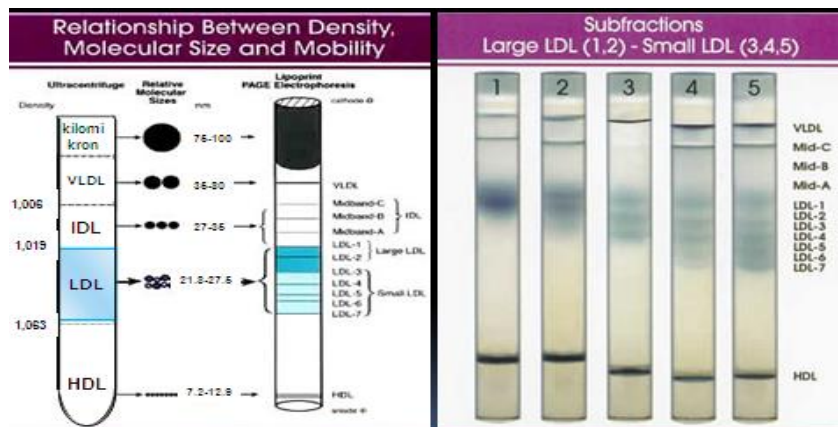
Ultrasentrifugasi dapat mengukur kadar subfraksi LDL namun membutuhkan peralatan khusus dan waktu pemeriksaan yang lama sehingga sulit untuk aplikasi klinis sehari-hari.^{10,19-21}

C. Elektroforesis Gel Poliakrilamida

Elektroforesis gel poliakrilamida [Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)] merupakan metode pemeriksaan untuk mengukur subfraksi LDL berdasarkan perbedaan muatan listrik dan ukuran partikel. Salah satu contohnya adalah lipoprint yang dikembangkan oleh Quantimetrix (Gambar 2). Media transport PAGE memungkinkan pemisahan menjadi 12 fraksi. Hasil berupa elektroferogram diwarnain dan dicuci (destaining) seperti pemeriksaan elektroforesis biasa. Hasil fraksionasi yang telah diwarnai diukur dengan alat pencacah densitometer. Hasil pencacahan dengan suatu perangkat lunak diubah menjadi gambar fraksi dan subfraksi berwarna-warni.²²

Pada carik (strip) elektroferogram seluruhnya dapat dilihat 12 pita, yaitu 1 pita VLDL, 3 pita IDL, 7 pita LDL dan 1 pita HDL. Pita tersebut menggambarkan subfraksi lipoprotein. Subfraksi LDL-1 dan LDL-2 mewakili subfraksi LDL partikel besar, subfraksi LDL-3, LDL-4, LDL-5, LDL-6, dan LDL-7 mewakili subfraksi LDL kecil. Subfraksi dinilai dengan persentase dan dinilai juga kandungan kolesterol dan ukuran besar masing-masing subfraksi. Lipoprint melakukan penetapan kadar kolesterol total juga. Hasil ditafsirkan dan dilaporkan apakah risiko rendah atau tinggi.²²





Gambar 2. Pemeriksaan sd-LDL metode PAGE dengan lipoprint ²³

Keuntungan metode pemeriksaan ini adalah waktu pemeriksaan yang lebih cepat dan mudah dari pada baku emas ultrasentrifugasi. Berbagai nilai yang disajikan dari lipoprint juga membantu menginterpretasi hasil pemeriksaan. ²²

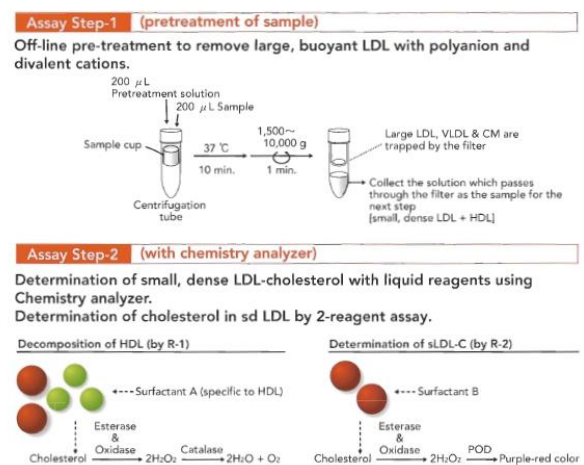
D. Presipitasi

Telah diketahui bahwa kombinasi kation divalen dan polianion mempresipitasi lipoprotein yang mengandung apo B sehingga terukur K-HDL. Baru-baru ini, Hirano, dkk menemukan bahwa kombinasi heparin dan magnesium tidak mempresipitasi semua lipoprotein yang mengandung ApoB tapi sebagian dari LDL yang dikenal dengan sd-LDL masih terdapat dalam supernatan. Sehingga dikembangkan metode pemeriksaan baru dengan menggunakan presipitasi heparin-Mg dilanjutkan dengan pengukuran langsung kadar K-LDL. ²⁰

Reagen presipitasi (0.2 mL) yang mengandung 150 U/mL garam sodium heparin dan 90 mmol/L MgCl₂ ditambahkan dalam sampel serum (0.2 mL) kemudian dicampur dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. lalu sampel diletakkan dalam kolom es dengan posisi berdiri selama 15 menit, setelah itu disentrifugasi pada 10.000 rpm (5000 x g) selama 1 menit. Presipitat akan terkumpul dibagian bawah tabung dan supernatant menjadi jernih. Aliquot supernatant diambil untuk pemeriksaan K-LDL. Kadar K-LDL dalam supernatant heparin-Mg [mengandung sd-LDL, d=1.044-1.063 g/mL] dan HDL] diukur secara langsung dan selektif dengan metode homogen. (*direct and selective homogeneous assay method* (LDL-EX, Denka Seiken, Tokyo, Jepang). Pemeriksaan kolesterol-low density lipoprotein (K-LDL) secara langsung dilakukan dengan *autoanalyzer* (Gambar 3). ¹⁹⁻²¹

Hirano, dkk juga membandingkan hasil pemeriksaan sd-LDL metode presipitasi dengan ultrasentrifugasi yang merupakan baku emasnya dan didapatkan korelasi yang kuat antara kedua metode pemeriksaan ini (r=0.91). penelitian itu juga menunjukkan terdapat korelasi positif antara sd-LDL dengan kadar K-LDL dan trigliserida serta korelasi negative dengan kadar K-HDL. ¹⁹

Metode presipitasi heparin-Mg merupakan metode pemeriksaan sederhana karena tidak membutuhkan teknik dan peralatan khusus. Pemeriksaan dengan metode ini cukup cepat karena selesai dalam 60 menit sehingga dapat diaplikasikan untuk pemeriksaan klinis rutin dan yang terpenting, metode presipitasi heparin magnesium dapat mengukur sd-LDL secara kuantitatif. ¹⁹⁻²¹



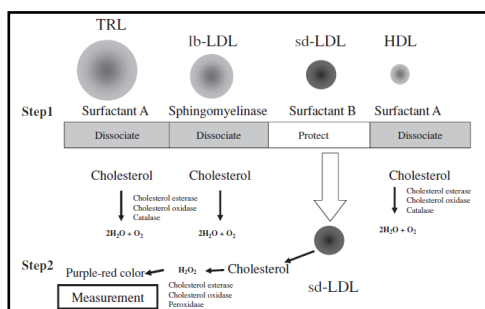
Gambar 3. Prosedur pemeriksaan sd-LDL dengan presipitasi heparin-Mg ²⁴

E. Direct homogeneous assay

Metode pemeriksaan *direct homogeneous* merupakan metode pemeriksaan terbaru yang dikembangkan dari metode presipitasi untuk memenuhi tuntutan kebutuhan akan pemeriksaan yang dapat dikerjakan secara otomatis. Keunggulan metode ini dibandingkan presipitasi adalah tidak membutuhkan proses *pre-treatment* sampel dan dapat dikerjakan secara otomatis dengan *autoanalyzer* sehingga metode ini dapat diaplikasikan untuk pemeriksaan rutin.²⁴

Metode *homogeneous* menggunakan interaksi surfaktan tertentu dengan lipoprotein sebagai dasar pemeriksaan. Pada pemeriksaan ini digunakan dua surfaktan yang berbeda, yaitu satu surfaktan untuk merusak lipoprotein non LDL dan satu surfaktan lain untuk melindungi sd-LDL. Pada tahap pertama surfaktan A bereaksi dengan lipoprotein non-LDL kemudian kolesterol dari lipoprotein non-LDL didegradasi dengan enzim *kolesterol oksidase* dan *esterase* serta *katalase* sehingga yang tersisa K-LDL [*large buoyant* LDL (lb-LDL) dan sd-LDL]. Sphingomielinase yang ditambahkan, secara spesifik akan merusak lb-LDL karena sphingomielin lebih banyak ditemukan pada lb-LDL dibandingkan pada sd-LDL. Selain itu, sphingomielinase mampu beragregasi dan berfusi dengan partikel LDL. Kolesterol dari lb-LDL kemudian juga didegradasi oleh enzim *kolesterol oksidase* dan *esterase* serta *katalase*. Surfaktan B yang ditambahkan akan melindungi sd-LDL dari sphingomielinase dan *kolesterol oksidase* dan *esterase*. Pada tahap kedua hanya sd-LDL yang tersisa dan kolesterolnya diperiksa dengan pemeriksaan K- LDL standar dengan enzim *kolesterol oksidase* dan *esterase* serta peroksidase dengan hasil warna merah keunguan yang diukur dengan panjang gelombang tertentu. Kadar sd-LDL sebanding dengan intensitas warna (Gambar 4).²⁴⁻²⁵

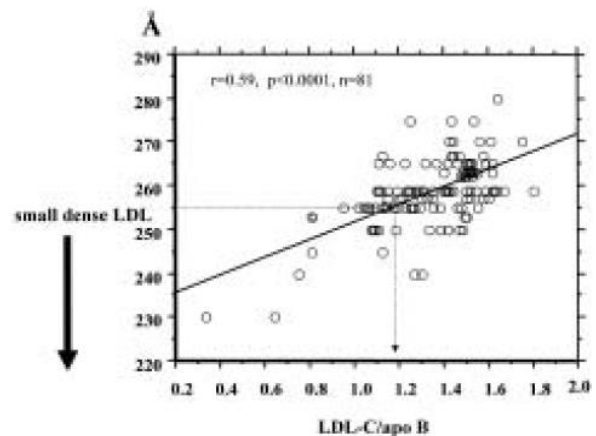
Ito dkk membandingkan kadar sd-LDL yang diperiksa dengan metode ultrasentrifugasi (baku emas) dan *homogeneous* dan didapatkan tidak adanya perbedaan bermakna kadar sd-LDL yang diperiksa dengan kedua metode tersebut ($p=0.220$) dan bila dilakukan uji regresi didapatkan korelasi kuat antarkedua metode tersebut ($R^2=0.91$).²⁵



Gambar 4. Pemeriksaan sd-LDL metode *homogeneous*²⁵

F. Rasio K-LDL/ApoB

Penetapan kadar Sd-LDL dapat diperkirakan dari rasio K-LDL/ApoB. Setiap partikel K-LDL mengandung protein berupa ApoB-100 dan kolesterol sebagai komponen lipid utamanya. Ukuran partikel LDL ditentukan oleh kandungan kolesterol. Karena hampir 90% ApoB ada pada fraksi LDL, maka kadar ApoB secara kasar menggambarkan jumlah partikel LDL. Karena itu, rasio K-LDL/ApoB menggambarkan kandungan kolesterol partikel LDL. Hirano, dkk menemukan rasio K-LDL/ApoB sebesar 1.2 sebanding dengan diameter LDL 25.5 nm sehingga sd-LDL diperkirakan bila rasio K-LDL/ApoB < 1.2. (Gambar 5). Penetapan Sd-LDL dengan rasio K-LDL/ApoB praktis dilakukan namun tidak mengukur sd-LDL secara langsung seperti metode presipitasi.¹⁹



Gambar 5. Korelasi antara rasio K-LDL/ApoB dan ukuran LDL¹⁹

3. Kesimpulan

LDL merupakan faktor risiko PKV dan aterosklerosis. Diketahui LDL berukuran kecil dan padat (diameter <25.5 nm dan densitas 1.044-1.063 g/mL) yang dikenal dengan sd-LDL merupakan fraksi LDL yang paling aterosklerogenik. Hal ini disebabkan oleh kemampuan sd-LDL yang mudah masuk ke dinding arteri dan teroksidasi. Sd-LDL mempunyai afinitas rendah terhadap reseptor LDL akibatnya lebih lama dalam sirkulasi. Selain itu, sd-LDL juga dapat menyebabkan disfungsi endotel. Karena itu, perlu untuk mengukur kadar kolesterol sd-LDL plasma. Berbagai metode pengukuran kadar kolesterol sd-LDL sudah tersedia baik pengukuran secara kualitatif maupun kuantitatif. Pengukuran dengan *direct homogeneous* merupakan metode sederhana yang dapat dikerjakan sebagai pemeriksaan rutin dan mengukur sd-LDL secara langsung (kuantitatif) dibandingkan metode lain.

Daftar Acuan

- American Heart Association. Heart disease and stroke statistical: 2009 Update at-A-Glance 2009. Diunduh dari: [URL:www.americanheart.org/statistics](http://www.americanheart.org/statistics). Diakses tanggal 10 Desember 2009.
- Immanuel S. Peranan patologi klinik dalam penatalaksanaan penyakit jantung koroner, kini dan di masa mendatang, Pidato pengukuhan Guru Besar Tetap dalam Ilmu Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta: Universitas Indonesia; 2007.
- Huang H, Mai W, Liu D, Hao Y, Tao J, Dong Y. The oxidation ratio of LDL: a predictor for coronary artery disease. *Disease Markers*. 2008;24:341-9.
- Scott MG. Small LDL, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Circulation*. 1997;95:1-4.
- Carmena R, Duriez P, Fruchart JC. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109[suppl III]:III-2 – III-7.
- Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *Q J Med*. 2006;99:1-14.
- Packard CJ. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochemical Society Transactions*. 2003;31(5): 1066-9.
- Austin MA, King M, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype: a proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*. 1990;82:495-506.
- Griffin BA, Minihane AM, Furlonger N, Chapman C, Murphy M, Williams D, et al. Inter-relationships between small, dense low-density lipoprotein (LDL), plasma triacylglycerol and LDL apoprotein B in an atherogenic lipoprotein phenotype in free-living subjects. *Clinical Science*. 1999;97:269-76.
- Sacks FM, Campos H. Low-density lipoprotein size and cardiovascular disease: a reappraisal. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(10):4525-32.
- Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation*. 1997;95:69–75.
- Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1996;276:882–88.
- Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988;260:1917–21.
- Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, Thomson J, Caslake MJ, Packard CJ, et al. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk [Abstrak]. *Atherosclerosis*. 1994;106:241-53.
- Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes & Metabolism*. 1999;25:199-211.
- Rizzo M, Berneis K, Corrado E, Novo S. The significance of low-density lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol*. 2006;25:4-9.
- Deric M. Pathophysiology and clinical significance of atherogenic lipoprotein phenotype and small dense LDL particles. *Jugoslav Med Biochem*. 2003;22:101-7.
- Mudd JO, Borlaug BA, Johnston PV, Kral BG, Rouf R, Blumenthal RS, et al. Beyond low-density lipoprotein cholesterol: defining the role of low-density lipoprotein heterogeneity in coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2007;50:1735-41.
- Hirano T, Ito Y, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles. *J Atheroscler Thromb*, 2005;12:67-72.
- Hirano T, Ito Y, Yoshino G. A Novel and simple method for quantification of small dense LDL. *J Lipid Res*, 2003;44:2193-2201.
- Hirano T, Ito Y, Koba S, Toyoda M, Ikejiri A, Saegusa H, Yamazaki J, Yoshino G; Clinical significance of small dense low-density lipoprotein cholesterol levels determined by the simple precipitation method. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004;24:558-563.
- Suryaatmadja M. Lipoprint: cara baru untuk analisis pola lipid darah. *Buletin ABC Laboratorium*. Edisi tahun VI/III/2006.
- DSI Laboratories. LDL subclasses by quantimetrix lipoprint. Diunduh dari: [URL: www.dsilabs.com](http://www.dsilabs.com). Diakses tanggal 11 November 2008.
- Denka Seiken. sd LDL-C “Seiken”. Diunduh dari: [URL: www.denka-seiken.co.jp](http://www.denka-seiken.co.jp). Diakses tanggal 4 November 2008.
- Ito Y, Fujimura M, Ohto M, Hirano T. Development of a homogeneous assay for measurement of small dense LDL cholesterol. *Clin Chem*. 2011;57(1):57-65.