

PENGARUH BLEOMISIN TERHADAP PEMBENTUKAN SEROMA PASCA MASTEKTOMI PADA KELINCI

Hery Susilo^{1*}, J.D.P. Wisnubroto¹, Nanda¹

¹*Program Studi Pendidikan Spesialis Ilmu Bedah, Jurusan Program Pendidikan Dokter Spesialis, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Ketawanggede, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65145.*

*Email: herysusilo@ub.ac.id

Abstrak

Seroma merupakan penumpukan cairan serous yang merupakan permasalahan yang sering ditemukan setelah tindakan pembedahan pada payudara. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian bleomisin terhadap terjadinya seroma pada kelinci yang dilakukan mastectomy dan diseksi axilla. Metode penelitian penelitian ini merupakan true eksperimental design dengan menggunakan hewan coba kelinci. Hasil penelitian didapatkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,001$). antara rata-rata volume seroma pada kelompok Kontrol sebesar $3,09 \pm 1,6$ ml dan rata-rata volume seroma pada kelompok bleomisin sebesar $0,46 \pm 0,44$ ml. rata-rata VEGF seroma pada kelompok bleomisin sebesar $39,12 \pm 16,45$ ng/L dan rata-rata VEGF seroma pada kelompok kontrol sebesar $4,05 \pm 1,94$ ng/L berbeda signifikan dengan $p=0,002$. Jumlah pembuluh darah pada kelompok Bleomisin sebesar $2,49 \pm 0,68$ /lpb, jumlah ini lebih kecil daripada jumlah pembuluh darah pada kelompok kontrol sebesar $9,47 \pm 3,51$ sel/lpb, jumlah tersebut berbeda secara signifikan ($P=0,002$). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian Bleomisin pada kelinci post mastektomi menurunkan volume seroma, menurunkan jumlah pembuluh darah dan menurunkan kadar VEGF pada proses pembentukan seroma.

Kata kunci: Seroma, Bleomisin, VEGF

PENDAHULUAN

Seroma merupakan penumpukan cairan serous yang merupakan permasalahan yang sering ditemukan setelah tindakan pembedahan pada payudara.¹⁻¹⁹ Meskipun biasanya keadaan ini akan teratasi beberapa minggu setelah tindakan operasi, namun penumpukan cairan seroma yang berlebih dapat menimbulkan peningkatan ketegangan flap kulit dan bisa menimbulkan masalah lain disamping rasa tidak nyaman dan pemanjangan waktu rawat inap penderita. Penderita akan sering melakukan kunjungan ke dokter untuk dilakukan aspirasi seroma.^{5,6,10,11} Pembentukan seroma dibawah flap kulit daerah luka dan axilla setelah mastectomy mengganggu proses penyembuhan luka.¹⁻¹⁹ Seroma berhubungan dengan pengumpulan cairan serous, cairan steril dengan fibrous pseudomembran di bawah luka kulit atau disekitar graft vaskuler, seroma merupakan masalah yang sering dihadapi pada 30-92% kasus post mastectomy. Pembentukan seroma juga dilaporkan antara 10-45% pada penderita post abdomioplasty dan 8 hingga 13% setelah dilakukan procedure facelift.¹⁰

Diketahui bahwa etiologi seroma merupakan multifaktorial, di mana melibatkan

gangguan hemostasis, gangguan aliran getah bening, pergeseran antara permukaan jaringan flap, penumpukan cairan karena terbentuknya *dead space* dan bekerjanya mediator koagulopati dan peradangan.¹⁻¹⁹ Mediator-mediator sistemik keradangan juga terlibat dalam pembentukan cairan seroma pada daerah *deadspace*.^{2,10,12,18} Migrasi makrofag dan poli-morphonuclear leukosit serta pelepasan histamines dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah dan produksi seroma.^{2,10,12,18}

Kadar dari proinflammatory cytokines pada luka atau cairan luka dapat digunakan sebagai parameter yang terpercaya yang merefleksikan kerusakan jaringan. Pemeriksaan biokimia pada seroma MRM menunjukkan bahwa seroma merupakan eksudat yang mengandung immunoglobulins, leukocytes, granulocytes dan lymphocytes. Dengan kata lain cairan seroma dapat dipakai sebagai bahan pengukuran proinflammatory cytokines.^{2,3,4,8,9,10,12,14,15}

Bleomisin merupakan sklerotizing agent diketahui memiliki antiangiogenesis, meningkatkan sintesis kolagen dan telah dipakai untuk menangani efusi pleura yang masif, hygroma, lymphangioma dan hemangioma.²⁰⁻²⁶ Dari penelitian menunjukkan bahwa penggunaan

bleomisin meningkatkan formasi adhesi. Mekanisme kerjanya diperkirakan terjadi karena adanya penurunan infiltrasi sel inflamasi, penurunan vasodilatasi dan penurunan angiogenesis serta memacu pembentukan fibrotik akibat efek sitotoksik.^{20,21,22,23}

Dari hal tersebut diatas penelitian ini ingin meneliti apakah pemberian bleomisin yang memiliki efek anti inflamasi dan anti angiogenesis sehingga dapat mempengaruhi terbentuknya seroma yang merupakan eksudat akibat pemanjangan proses inflamasi pada luka operasi post mastectomy. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bleomisin terhadap terjadinya seroma pada kelinci yang dilakukan mastectomy dan diseksi axilla.

MATERI DAN METODE

Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan true eksperimental design dengan menggunakan hewan coba kelinci. Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan randomized complete design. Kelinci dibagi menjadi dua perlakuan, kelompok I dilakukan mastectomy dan diberikan bleomisin dan kelompok II dilakukan mastectomy tanpa pemberian bleomisin. Volume cairan seroma yang terbentuk, kadar VEGF dari cairan seroma diukur serta jumlah neovaskuler dan jaringan nekrotik pada jaringan dasar seroma diperiksa.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Laboratorium Faal. Penelitian dilakukan selama tiga bulan oktober - desember 2020. Penelitian ini menggunakan hewan coba 20 ekor New Zealand Rabbit. Dengan kriteria hewan uji adalah: Hewan sehat, gerak aktif dan tanpa cacat; Berat badan 2,5 – 4 kg; Betina; Umur 3-4 bulan; Kriteria eksklusi: Terdapat luka atau scar di daerah mammae.

Variabel Penelitian

Terdapat 2 variabel yang diobservasi diantaranya adalah variabel dependen yaitu Volume Seroma, Kadar VEGF, Gambaran neovaskular. Variabel kedua adalah variabel independen yaitu: Pemberian bleomisin.

Perlakuan

Hewan coba di kelompokkan menjadi dua. Kelompok pertama (bleomisin): kelinci yang telah terbius dilakukan disinfeksi dan demarkasi lapangan operasi, dilakukan mastectomy. Dilakukan injeksi Preparat Bleomisin intraleksi 0.8 mg. /kgBB. Kelinci dipelihara selama 7 hari. Dilakukan inspeksi setiap hari. Kelompok kedua (Kontrol): kelinci yang telah terbius dilakukan disinfeksi dan demarkasi lapangan operasi, dilakukan mastectomy. Kelinci dipelihara selama 7 hari. Dilakukan inspeksi setiap hari. Hewan coba pada tiap kelompok pada hari ketujuh dilakukan aspirasi seroma, pemeriksaan volume seroma, pemeriksaan biokimia dan pemeriksaan histopatologi.

Pelaksanaan Percobaan

Hewan coba dibagi dalam dua kelompok perlakuan, masing masing kelompok terdiri dari 10 hewan coba. Hewan coba ini dipelihara dalam kandang dengan desain, makanan dan minuman yang sama secara ad libitum.

Tahap Pertama, setiap hewan coba dianestesi dengan ketamin 1mg/kgBB, selanjutnya diletakkan di meja operasi, dilakukan disinfeksi dan demarkasi lapangan operasi, kemudian dilakukan mastectomy.

Tahap kedua, kelompok I, setelah mastectomy diberi suntikan Preparat Bleomisin intraleksi 0.8 mg. /kgBB 1 jam setelah mastectomy dan dilakukan observasi inspeksi flap setiap hari. Kelompok II, setelah mastectomy dilakukan observasi inspeksi flap setiap hari. Seluruh hewan coba dipelihara selama tujuh hari.

Tahap Ketiga, setelah dipelihara selama 7 hari kedua kelompok dilakukan aspirasi seroma, dan dilakukan pengukuran volume.

Tahap Keempat, kedua kelompok dilakukan pemeriksaan biokimia untuk memeriksa kadar VEGF dengan menggunakan ELISA.

Tahap Kelima, kedua kelompok dilakukan ekscisi flap kulit dan jaringan dibawahnya kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk dihitung jumlah rata-rata neovaskular perlapangan pandang.

Pengolahan dan Analisa Data

Analisis penelitian ini menggunakan uji t tidak berpasangan dan uji Mann Whitney untuk membuktikan hipotesis penelitian. Analisis data menggunakan lunak SPSS for window.

HASIL DAN ANALISIS DATA PENELITIAN Sampel Hewan Coba

Penelitian ini dilakukan pada 20 sampel hewan coba yang dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Setelah dilakukan mastektomi, kelompok pertama diberi Bleomisin dan kelompok kedua kontrol tanpa pemberian Bleomisin. Dari 20 sampel tersebut satu kelinci kelompok Bleomisin didapatkan mati pada hari ke delapan dan satu kelinci kelompok Bleomisin didapatkan hematoma pada luka operasi.

Volume Seroma

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rata-rata volume seroma pada kelompok Kontrol sebesar $3,09 \pm 1.6$ ml dan rata-rata volume seroma pada kelompok bleomisin sebesar $0,46 \pm 0,44$ ml (Tabel 5.1).

Cairan seroma berwarna kekuningan (serous). Dua sampel kelompok Bleomisin terbentuk seroma yang minimal dan satu sampel kelompok Bleomisin terbentuk hematoma



Gambar 1. a. Sampel seroma kelompok Kontrol, b. Sampel seroma kelompok perlakuan, c. Hematom

Dari hasil analisis statistik menggunakan uji t tidak berpasangan didapatkan perbedaan yang signifikan antara volume seroma kelompok kontrol dan kelompok bleomisin dimana volume kelompok bleomisin lebih kecil dari pada kontrol ($p=0,001$).

VEGF Seroma

Kadar VEGF pada seroma diukur. Hasil pengukuran Tabel 1 menunjukkan rata-rata VEGF seroma pada kelompok bleomisin sebesar $39,12 \pm 16,45$ ng/L dan rata-rata VEGF seroma pada kelompok kontrol sebesar $4,05 \pm 1,94$ ng/L berbeda signifikan dengan $p=0,002$.

Table 1. Hasil Uji Beda Volume Seroma, Kadar VEGF, dan Jumlah Pembuluh Darah berdasarkan Perlakuan

Variabel	Kelompok	Rata-rata	Standart Deviasi	P
Volume Seroma	Kontrol	3.090	1.7013	0,001*
	Bleomisin	0.460	0.4377	
VEGF Seroma	Kontrol	39.1250	16.451634	0,002*
	Bleomisin	4.05000	1.942936	
Jumlah pembuluh darah	Kontrol	9.470	3.5106	0,002**
	Bleomisin	2.490	0.6806	

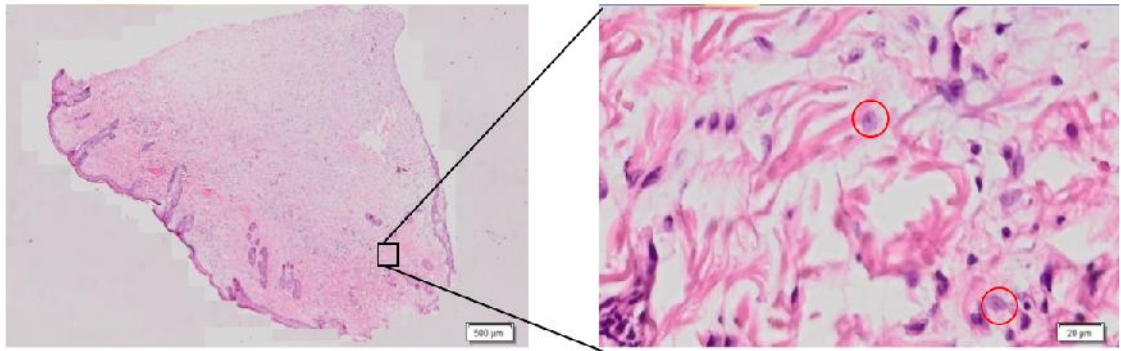
* Uji T tidak berpasangan

** Uji Mann Whitney

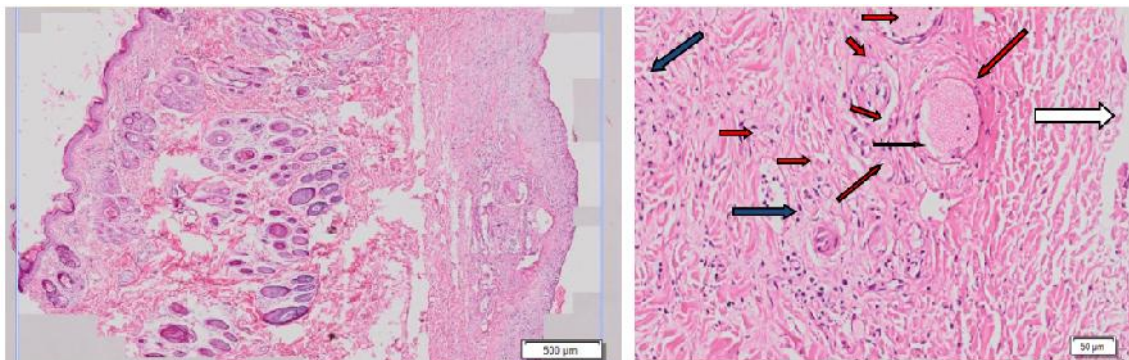
Jumlah Pembuluh Darah

Jaringan flap kulit dilakukan penghitungan jumlah pembuluh darah. Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan rata-rata Jumlah pembuluh darah pada kelompok Bleomisin sebesar $2,49 \pm 0,68$ /lpb, jumlah ini lebih kecil daripada jumlah pembuluh darah pada kelompok kontrol sebesar $9,47 \pm 3,51$ sel/lpb. Pada saat

pengujian normalitas sampel ternyata distribusi data tidak normal sehingga uji yang dipakai adalah Mann-Whitney Test. Ada perbedaan yang signifikan antara jumlah pembuluh darah pada kelompok Bleomisin dengan kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,002$. Gambaran pembuluh darah pada kedua kelompok dapat dilihat pada gambar 2 dan 3



Gambar 2. Jaringan Seroma Kelompok Bleomisin, Gambaran Pembuluh Darah dalam Jaringan dengan Perbesaran 400X (pembuluh darah dalam lingkaran merah)

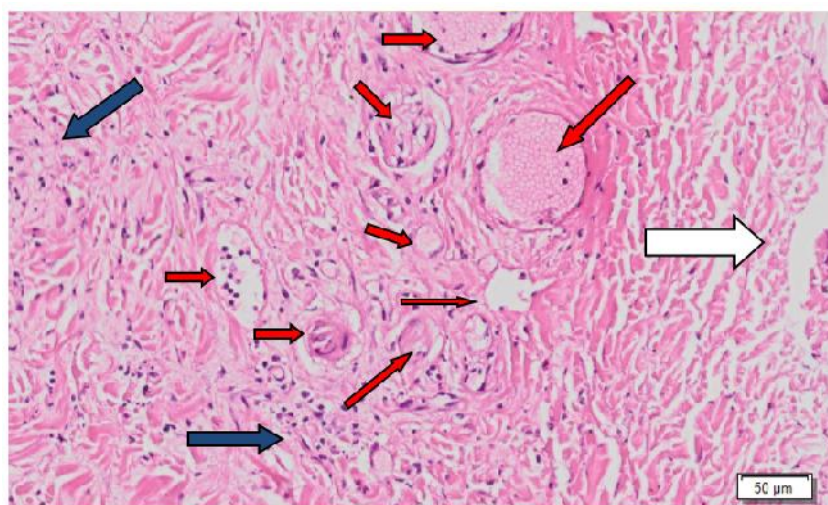


Gambar 3. Jaringan Seroma Kelompok Kontrol, Gambaran Pembuluh Darah dalam Jaringan dengan Perbesaran 400X (Pembuluh darah ujung tanda panah)

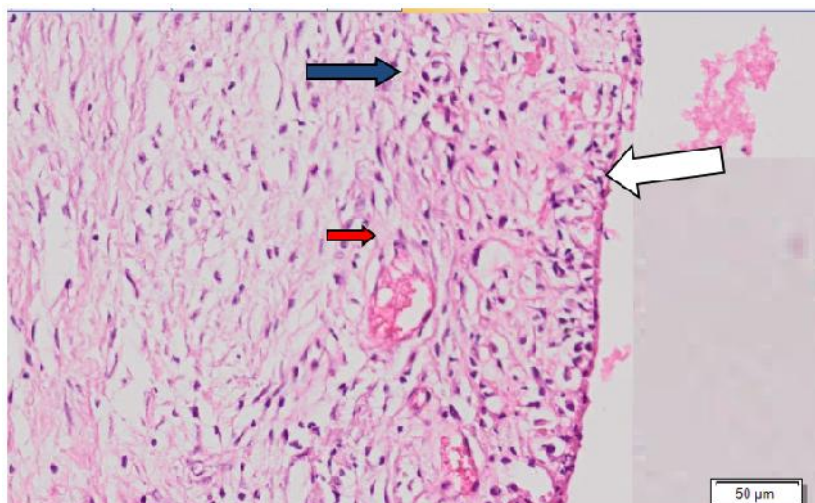
Gambaran Histopatologi

Dari gambaran mikroskopis pada jaringan flap kelompok kontrol (gambar 4) selain didapatkan neovaskularisasi dalam jumlah yang banyak juga didapatkan serbuk sel inflamasi dalam jumlah yang banyak dan jaringan ikat yang edem dan rusak.

Bila dibandingkan dengan jaringan flap dari kelompok Bleomisin (gambar 5) tampak telah terbentuk dinding fibrosis, vaskularisasi yang telah terbentuk dan serbuk sel fibroblas yang matur serta sedikit didapatkan sel radang.



Gambar 4. Gambaran Infiltrasi Sel-sel Radang (panah biru), Neovaskularisasi (panah merah) dan Jaringan Ikat yang Edem dan Rusak (panah putih)



Gambar 5. Gambaran Sel-sel Fibroblas yang Matur (panah biru), Vaskularisasi (panah merah) dan Dinding Jaringan Fibrosis (panah putih)

PEMBAHASAN

Referensi prosedur pembentukan seroma pada model penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Zuhoor K Algaithy dari departemen bedah, Rumah Sakit King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia. Setelah dilakukan mastektomi, hewan coba kelompok perlakuan diinjeksikan bleomisin 0,8mg/KgBB intra lesi. Pemakaian bleomisin dengan dosis ini sudah sesuai dengan data dari beberapa penelitian klinik. Bleomisin diberikan segera kurang dari 1 jam setelah tindakan mastektomi. Perlu diingat bahwa meskipun proses peradangan merupakan proses kedua dari penyembuhan luka namun proses inflamasi sendiri mulai terjadi segera setelah terjadi trauma sebagai respon terhadap vasodilatasi, terjadi 10-15 menit setelah trauma.³⁰ Pemberian secara intralesi dipilih karena pemberian secara intralesi mempunyai waktu paruh, dosis maintainan yang lebih lama bila dibandingkan dengan pemberian secara intravena dengan efek klinis tidak berbeda serta efek samping yang sangat minimal.^{20,244,25}

Pengukuran kadar VEGF seroma dengan pemberian bleomisin didapatkan hasil rata-rata $39,12 \pm 16,45$ ng/L dan rata-rata VEGF seroma pada kelompok kontrol sebesar $4,05 \pm 1,94$ ng/L dengan nilai perbedaan yang signifikan ($p=0,002$). Dari hasil tersebut maka penelitian ini dapat menjelaskan pengaruh pemberian bleomisin terhadap kadar VEGF pada proses pembentukan seroma. Pada limfangioma dan hemangioma bleomisin terbukti mampu menghambat VEGF yang akan memediasi angiogenesis Dalam

beberapa penelitian, penurunan VEGF merupakan factor utama untuk pencegahan angiogenesis atau kongesti vaskular. Penurunan dari angiogenesis dan kongesti vaskular dapat mengurangi penumpukan cairan plasma dan reffluks cairan dari ujung kapiler menuju permukaan daerah yang sakit.^{20,21,22,23,25}

Penelitian yang dilakukan oleh Gaithy mendapatkan hasil bahwa kadar VEGF pada serum kelinci yang terbentuk seroma secara signifikan lebih tinggi daripada yang tidak terbentuk seroma. Kadar VEGF pada cairan jaringan yang tinggi menggambarkan pemanjangan proses penyembuhan luka. Hal ini bisa menyebabkan luka kronis yang tidak sembuh dan timbulnya komplikasi proses penyembuhan luka seperti nekrosis flap dan terjadinya seroma. Selain itu VEGF juga terbukti menyebabkan terjadinya proses angiogenesis sehingga peningkatan VEGF yang tinggi menginduksi angiogenesis bisa menjelaskan akumulasi cairan seroma sebagai hasil dari kebocoran pembuluh-pembuluh darah yang baru terbentuk.^{20,21,22,23,25}

Penghitungan jumlah pembuluh darah pada lima lapangan pandang secara acak dari masing masing sampel didapatkan kelompok bleomisin Jumlah pembuluh darah pada kelompok Bleomisin sebesar $2,49 \pm 0,68$ /lpb, jumlah ini lebih kecil daripada jumlah pembuluh darah pada kelompok kontrol sebesar $9,47 \pm 3,51$ sel/lpb, jumlah tersebut berbeda secara signifikan dengan jumlah pembuluh darah pada pemberian bleomisin yang lebih sedikit daripada kontrol ($P=0,002$). Penggunaan sklerotizing agent dalam

menurunkan angiogenesis berhubungan dengan nekrosis dari jaringan. Scleroting agent dapat secara signifikan mempengaruhi pola mikrovesel seperti pembentukan formasi loop interkoneksi atau percabangan mikrovesel. Efek sitotoksik bleomisin pada microvessels yang berlimpah cabang dan terminal vessel dapat menghasilkan toksisitas pembuluh darah yang signifikan dan mengakibatkan flap iskemia dan nekrosis. Pada penelitian ini tidak ditemukan flap yang nekrosis dikarenakan menggunakan dosis yang umum digunakan pada limfangioma, hemangioma dan hygroma intralesi.^{20,21,22,24}

Pada penelitian menggunakan assay angiogenesis *in vitro* menggunakan Sel endotel mikrovasculer Bovine ternyata bleomycin dapat menghambat faktor pertumbuhan yang menginduksi invasi sel BME dari matriks kolagen (bFGF-dan VEGF). Bleomycin secara signifikan dapat menghambat pembentukan cord sel endothelial. Dalam studi lain bleomisin ditunjukkan dapat menghambat sintesis DNA dan menyebabkan penghentian siklus sel pada sel endotel. Sangat mungkin bahwa efek penghambatan ini terhadap proliferasi sel endotel bisa bertanggung jawab untuk efek penghambatan obat pada angiogenesis *in vitro*.²¹

Penelitian ini menemukan bahwa volume seroma pada kelompok perlakuan lebih kecil daripada kelompok kontrol secara signifikan ($p=0,001$). Dari 20 sampel penelitian, 10 kelinci kelompok kontrol terbentuk seroma (100%) dengan volume rata-rata $3,09 \pm 1,6$ ml dan rata-rata volume seroma pada kelompok bleomisin sebesar $0,46 \pm 0,44$ ml. Seroma yang terbentuk sebagian besar berupa cairan serous berwarna bening kekuningan dan beberapa berwarna bening kuning kemerahan. Seroma merupakan pengumpulan cairan serous di bawah jaringan subkutane.^{6,7,10} Penelitian serupa yang telah dilakukan oleh Al Gaithy, pada pembedahan di hari ketujuh mendapatkan seroma terbentuk pada 46% sampel yang mereka teliti dengan hasil cairan seroma berwarna bening dan berwarna bening seperti strawberi (serous, serousanginous) dengan volume rata-rata $3,03 \pm 2,21$ ml.^{2,3}

Diperkirakan bahwa seroma merupakan eksudat yang dihasilkan dari reaksi inflamatory atau juga bisa berasal dari liquifaksi jaringan lemak atau limfe^{8,9,12}. Pada hari pertama setelah operasi, cairan drainase mengandung darah dan creatine phosphokinase (CPK) yang tinggi.

Setelah itu berubah mirip cairan limfatetapi terdapat sel-sel yang berbeda, lebih banyak protein dan tidak terdapat fibrinogen sehingga menyebabkan proses koagulasi tidak terjadi. Produksi cairan berkurang disebabkan oleh proses penyembuhan luka seperti pembentukan jaringan scar dan jaringan.⁸ Seroma adalah eksudat dari proses inflamasi akut sebagai respon dari trauma akibat pembedahan dan merupakan fase akut dari penyembuhan luka.⁶ Watt-Boolsen et al. (1989) menemukan bahwa komposisi cairan seroma bukan merupakan akumulasi dari serum namun merupakan eksudat. Jaringan yang menutupi seroma terlihat sebagai jaringan granulasi yang didalamnya terdapat fibroblas, sel-sel inflamasi dan pembentukan pembuluh darah baru dalam jumlah yang sangat banyak. Pada daerah yang didapatkan estravasasi sel darah terkesan adanya pembentukan dinding pembuluh darah yang rapuh. Infiltrasi sel-sel inflamasi terdiri dari eosinofil dan sel-sel lain seperti lymphocyte, macrophag dan plasma sel dalam jumlah yang sangat banyak.^{2,3,4,8,9,15}

Perbedaan volume yang signifikan antara kelompok Bleomisin dengan kontrol terjadi karena bleomisin memiliki efek anti inflamasi yang berpengaruh terhadap proses inflamasi dasar terbentuknya seroma. Pengaruh bleomisin pada proses inflamasi pembentukan seroma pada penelitian ini terlihat dari hasil pengukuran kadar VEGFseroma dan jumlah neovaskularisasi per lapangan pandang. Dari penelitian ini, pada hari ke tujuh pada kelompok bleomisin didapatkan volume seroma dan jumlah pembuluh darah lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menggambarkan bahwa proses inflamasi pada hari ketujuh pada kelompok bleomisin lebih ringan daripada kelompok Kontrol, sehingga diperkirakan terdapat pemanjangan proses inflamasi pada kelompok Kontrol. Pemanjangan proses inflamasi pada kelompok Kontrol ini menjelaskan perbedaan jumlah volume seroma yang terbentuk lebih besar daripada kelompok bleomisin. Seroma yang terbentuk merupakan eksudat dari proses inflamasi akibat pemanjangan proses penyembuhan luka.⁹ Pemberian intralesi bleomisin menyebabkan percepatan epitelisasi luka, pemendekan fase inflamasi dengan percepatan resolusi pembentukan jaringan granulasi dan penurunan densitas pembuluhdarah dengan maturasi pembuluh darah yang lebih cepat

pada daerah luka.^{20,21}. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak adanya penilaian efek samping dari bleomisin baik efek samping lokal ataupun sistemik. Sehingga masih diperlukan penelitian lanjutan untuk bisa diterapkan pada manusia

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa : Pemberian Bleomisin pada kelinci post

mastektomi menurunkan volume seroma. Pemberian Bleomisin pada kelinci post mastektomi menurunkan jumlah pembuluh darah yang menggambarkan proses inflamasi yang lebih cepat. Pada penelitian bleomisin pada kelinci post mastektomi menurunkan kadar VEGF pada proses pembentukan seroma.

DAFTAR PUSTAKA

- A.J.M. van Bommel, C.J.H. van de Velde, R. F. Schmitz, G.J. Liefers. "Prevention of Seroma Formation After Axillary Dissection in Breast Cancer: a Systematic Review". *European Journal of Surgical Oncology*; 37, 10;829 2011.
- Angelique F. Vitug, MD, Lisa A. Newman. "Complications in Breast Surgery". *Surg Clin N Am*; 87,p 431-451 2007.
- Bao P, Kodra A, Golinko MS. "The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing". *Journal of Surgical Research* 153 : 347-358. 2009.
- Bonnema J, Ligtenstein DA, Wiggers T, van Geel AN. "The composition of serous fluid after axillary dissection". *The European Journal of Surgery*, 165(1):9-1, 1999.
- Christopher J. et al. "Intralesional and Perilesional Treatment of Skin Cancers". D.F. MacFarlane (ed.), *Skin Cancer Management*, 73-75 2010.
- Danai Chourmouzi, Trantafilos Vryzas and Antonios Drevelegas. "New Spontaneous Breast Seroma 5 Years After Augmentation: a Case Report". *Cases Journal*; 2:7126, 2009.
- David C. G. Sainsbury, et al." Intralesional Bleomycin Injection Treatment for Vascular Birthmarks: A 5-Year Experience at a Single United Kingdom Unit". *Plast.Reconstr. Surg.* 127: 2031-44, 2011.
- Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G."Perspective Article Tissue Repair, Contraction, and The Myofibroblast". *World Repair and Regeneration*; 13; 7-12, 2005.
- Emad Hokkam, Sherif Farrag, Soliman El Kammash. "Tetracycline Sclerotherapy In Treating Postmastectomy Seroma: a Simple Solution for A Frequently Occuring Problem". *Egyptian Journal of Surgery* Vol 28, No 3, July, 2009.
- G Ionescu, P Mabeta, N Dippenaar, T Muir, P Fourie, G Shelver. "Bleomycin plasma spill-over levels in paediatric patients undergoing intralesional injection for the treatment of haemangiomas". *SAMJ*, Vol. 98, No. 7 , July 2008.
- Gauglitz GG, Korting HC, Pavicic T, Ruzicka T, Jeschke MG."Hypertrophic Scarring and Keloid : Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies". *Mol Med*; 17(1-2); 113-125, 2011.
- Gille H, Kowalsky J, Li B, LeCounter J. "Analysis of Biological Effects and Signaling Properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2)". *The Journal of Biological Chemistry* 276(5) : 3222-3230, 2001.
- Gursev Sandlas, Paras Kothari, Parag Karkera, Abhaya Gupta. "Bleomycin: A worthy alternative". *Indian Journal of Plastic Surgery* Vol 44 Issue 1, January-April 2011.
- Hemant Bajpai, Sarika Bajpai. "Comparative Analysis of Intralesional Sclerotherapy with Sodium Tetradecyl Sulfate Versus Bleomycin in the Management of Low Flow Craniofacial Soft Tissue Vascular Lesions".
- Hui Young, Lee, Kyu-Hyong, LIM, Youngjoon Ryu and Seo-Young Song. "Bleomycin-induced flagellate erythema: A case report and review of the literature". *Oncology Letters* 8: 933-935, 2014
- Ian C. Duncan and Leon Van Der Nest. "Intralesional Bleomycin Injections for the Palliation of Epistaxis in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia". *AJNR Am J Neuroradiol* 25:1144-1146, August 2004
- Ian C. Duncan, Pieter A. Fourie, and Albert S. Alberts "Direct Percutaneous Intratumoral Bleomycin Injection for Palliative Treatment of Impending Quadriplegia".

- AJNR Am J Neuroradiol 25:1121–1123, June/July 2004
- J. Maxillofac. Oral Surg. 11(1):13–20, Jan-Mar 2012.
- Jamal Bullocks,, C. Bob BasuPatrick Hsu, Robert Singer.” Prevention of Hematomas and Seromas”. Semin Plast Surg; 20:233-240, 2006.
- Kadir Serkan.et al.” Efects of Local Anti-Inflammatory Drug on Seroma Formation After Mastectomy and Axillary Lymph Node dissection in The Rat Mode”. National Journal of Medical Research. Volume 228-231, 4July – Sept 2014.
- Kerim Bora et al. Comparing Scalpel.” Electrocautery and Ultrasonic Dissector Effects: The Impact on Wound Complications and Pro-Inflammatory Cytokine Levels in Wound Fluid from Mastectomy Patients”. J Breast Cancer; 14(1): 58-63, 2011.
- Lisa Clarke.” Studies on the mechanism of action of the chemotherapeutic drug bleomycin on cell lines derived from haemangioma and keloid”. A thesis submitted for the degree of Master of Science Department of Biological and Biomedical Science Durham University 2009.
- M.A. Kocdor, et al. “Effects of Locally Applied 5-Fluorouracil on the Prevention of Postmastectomy Seromas in a Rat Model” Eur Surg Res;40:256-262, 2008.
- Mark Williams, Scott A. Flanders, Winthrop F. Whitcomb. “Comprehensive Hospital Medicine An Evidence Based and Systems Approach” Saunders Elsevier; p 813, 2007.
- Mehmet M et al. “Effects of local phenytoin on seroma formation after mastectomy and Axillary lymph node dissection: an experimental study on mice”. BMC Surgery 12:25, 2012.
- Melinda M et al.”Fibrin Sealant Does Not Decrease Seroma Output or Time to Drain Removal Following Inguino-Femoral Lymph Node Dissection in Melanoma Patients: A randomized Controlled Trial”. World Journal of Surgical Oncology; 6:63, 2008.
- MIMS Drug Information System, [Online], diakses pada 5 Januari 2014, Available : [http:// www.mims.com](http://www.mims.com)
- Monaco JL, Lawrence WT.”Acute Wound Healing “: An Overview, Clin Plastic Surg; 30; 1-12, 2003.
- Napoleone Ferrara..”Antiangiogenic Cancer Therapy : Vascular Endothelial Growth Factor : Basic Biology and Clinical Implications”. CRC Press. USA : 23-42, 2008.
- Peace Mabeta, Paul F. Davis,Michael S. Pepper. “Interferon alpha And Bleomycin exert Antiangiogenic Activity Through Different Mechanisms”. 3Netcare Molecular Institute, Pretoria, South Africa
- Peaceful Mabeta. “The effects of bleomycin, mitomycin C, and cytoskeletal-disrupting drugs on angiogenesis in vitro and haemangioma development in vivo”.Thesis University of Pretoria, 107-23 2010
- Peter N. Zawaneha, Sunil P. Singhb, Robert F. Paderac, Peter W. Hendersonb, Jason A. Spector, and David Putnam. “Design of an Injectable Synthetic and Biodegradable Surgical Biomaterial”. PNAS; 107, 24, 2010.
- Rini BI, Small EJ. “Biology and Clinical Development of Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy in Renal Cell Carcinoma”. Journal of Clinical Oncology 23(5) : 1028-1043, 2005.
- Sanjitha Sampathraju, Gabriel Rodrigues.”Seroma Formation After Mastectomy: Pathogenesis and Prevention”. Indian J Surg Oncol ; 1(4):328-333 , 2010.
- Saxena, Hajela. “Role of Bleomycin in Treatment of Cystic Hygroma”. International Journal of Medical Research and Review. Vol 2, Issue 4, July- August, 2014.
- Sebastian W, et al. “ Axillary dissection in primary breast cancer: variations of the surgical technique and influence on morbidity”. Cancer Management and Research:4 121–127, 2012.
- Sedighe Tahmasebi, Armin Amirian, Abdolrasul Talei.”Axillary Dissection in 44 Breast Cancer Patients without Seroma Formation”. Middle East Journal of Cancer; 2(2): 65-69, 2011.
- Toshiyuki Yamamoto and Ichiro Katayama.. “Vascular Changes in Bleomycin-Induced Scleroderma”. International Journal of Rheumatology Volume 2011,

- Tufan Egeli, et al. "Microporous Polysaccharide Hemospheres and Seroma Formation After Mastectomy and Axillary Dissection in Rats". *Balkan Med J*; 29: 179-83, 2012.
- Vivek Srivastava, Somprakas Basu, Vijay Kumar Shukla." Seroma Formation after Breast Cancer Surgery: What We Have Learned in the Last Two Decades". *J Breast Cancer*; 15(4): 373-380, 2012.
- Wolfram D, Tzankov A, PuZl P, Katzer HP."Hypertrophic Scar and Keloids : A Review of Their Pathophysiology, Risk Factors and Therapeutic Management". *Dermatol Surg*; 35; 171-181, 2009.
- Xiao-Feng Jin-Liang Huan, Xian-Ju Qin. "Potential risk factors for the development of seroma following mastectomy with axillary dissection". *Molecular And Clinicall Oncology* 3: 222-226, 2015
- Yinlong Yang, et al."Effectiveness of OK-432 (Sapylin) to Reduce Seroma Formation After Axillary Lymphadenectomy for Breast Cancer". *Ann Surg Oncol* 20:1500–1504, 2013.
- Z.K. Al-Gaithy, S.S. Ali, N. Al-Sawy and N.N. Ayuob." Local and Systemic TNF-a Level Correlation to Histopathology in Post-Mastectomy Seroma in Rabbits" *Surgery Journal*; 5;2,17-21, 2010.
- Zuhoor K Al-gaithy. Effect of Intra-operative Topical Tetracycline Versus 5-Fluorouracil in Prevention of Post-mastectomy Seroma in Rabbit Model" *Life Science Journal*; 9(2):491-496, 2012.

