



## **PENGARUH PEMBERIAN SKLEROTING AGENT (BLEOMISIN) TERHADAP KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) PASCA MASTEKTOMI**

**Hery Susilo<sup>1</sup>, J.D.P. Wisnubroto<sup>2</sup>, Nanda<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Pendidikan Spesialis Ilmu Bedah, Jurusan Program Pendidikan Dokter Spesialis, Universitas Brawijaya.

Korespondensi: Jl. Veteran, Ketawanggede, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65145

Email: [herysusilo@ub.ac.id](mailto:herysusilo@ub.ac.id)

### **Abstrak**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian bleomisin terhadap terjadinya seroma pada kelinci yang dilakukan mastectomy dan diseksi axilla. Penelitian ini menggunakan metode true eksperimental design dengan menggunakan hewan coba kelinci. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) antara rata-rata volume seroma pada kelompok kelinci kontrol sebesar  $3,09 \pm 1,6$  ml dan rata-rata volume seroma pada kelompok kelinci 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 ( $p=0,002$ ). 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 ( $P=0,002$ ). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian Bleomisin pada kelinci pasca mastektomi menurunkan volume seroma, menurunkan jumlah pembuluh darah dan menurunkan kadar VEGF pada proses pembentukan seroma.

**Kata Kunci :** *Bleomisin, Kelinci, Kesehatan Kelinci, Seroma*

## THE EFFECT OF SCLEROTING AGENT (BLEOMICIN) ON RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*) AFTER MASTECTOMY

### Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of bleomycin on the occurrence of seroma in rabbits under mastectomy and axilla dissection. This study used true experimental design method using experimental rabbits. The results showed a significant difference ( $p = 0.001$ ) between the mean seroma volume in the control rabbit group of  $3.09 \pm 1.6$  ml and the mean seroma volume in the bleomycin rabbit group of  $0.46 \pm 0.44$  ml. The mean VEGF seroma in the bleomycin group was  $39.12 \pm 16.45$  ng / L and the mean VEGF seroma in the control group was  $4.05 \pm 1.94$  ng / L which differed significantly ( $p = 0.002$ ). The number of blood vessels in the Bleomycin group was  $2.49 \pm 0.68$  / lpb, this number was smaller than the number of blood vessels in the control group of  $9.47 \pm 3.51$  cells / lpb ( $P = 0.002$ ). The conclusion of this study is that giving Bleomycin to rabbits after mastectomy decreased seroma volume, decreased the number of blood vessels and decreased VEGF levels in the process of seroma formation.

**Key words :** *Bleomycin, Rabbit, Rabbit Health, Seroma.*

### PENDAHULUAN

Bleomisin merupakan skleroting agent diketahui memiliki antiangiogenesis, meningkatkan sintesis kolagen dan telah dipakai untuk menangani efusi pleura yang masif, hygroma, limfangioama dan hemangioma (Gursev *et al.*, 2011). Bleomisin merupakan salah satu obat anti-kanker yang dapat menginduksi fibrosis paru-paru pada manusia dan hewan (Rahmi *et al.*, 2015). Bleomisin merupakan sekelompok glukopeptida yang dihasilkan dari *Streptomyces verticillus* (Hemant *et al.*, 2012). Bleomisin bersifat sitotoksik berdasarkan daya memecahkan DNA (Ian *et al.*, 2005). In vitro, bleomisin menyebabkan akumulasi sel pada fase G2 dan banyak sell memperlihatkan aberasi kromosom termasuk pecahnya, fragmentasi dan translokasi kromatid.

Kelinci merupakan hewan yang memiliki pergerakan aktif. Ketika kelinci mengalami luka, proses penyembuhan lukanya lambat. Pada

kenyataannya fase-fase penyembuhan luka berlangsung secara tumpang tindih, namun digambarkan linier / bertahap untuk memudahkan pemahaman. 5 fase penyembuhan luka meliputi fase hemostasis, fase inflamasi, fase migrasi dan proliferasi seluler, fase sintesa protein dan kontraksi luka serta fase remodeling (Monaco dan Lawrence, 2003). Beberapa literatur ada yang membagi hanya dalam 3 fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling (Wolfram *et al.*, 2003; Gauglitz *et al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bleomisin terhadap terjadinya seroma pada kelinci yang dilakukan mastectomy dan diseksi axilla.

## METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Laboratorium Faal selama tiga bulan Oktober - Desember 2020. 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. Penelitian ini menggunakan hewan coba New Zeland Rabbit.dengan kriteria Inklusi

1. Hewan coba sehat, gerak aktif dan tanpa cacat
2. Berat badan 2,5 – 4 kg
3. Betina
4. Umur 3-4 bulan

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*.

1. Tahap Pertama, setiap hewan coba dianastesi dengan ketamine 1mg/kgBB, selanjutnya diletakkan di meja operasi, dilakukan disinfeksi dan demarkasi lapangan operasi, kemudian dilakukan mastectomy.
2. Tahap kedua, kelompok I, setelah mastectomy diberi suntikan Preparat Bleomisin intralesi 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.
3. Tahap Ketiga, setelah dipelihara selama 7 hari kedua kelompok dilakukan aspirasi seroma, dan dilakukan pengukuran volume.
  4. Tahap Keempat, kedua kelompok dilakukan pemeriksaan biokimia untuk memeriksa kadar VEGF dengan menggunakan ELISA.
  5. Tahap Kelima, kedua kelompok dilakukan ekscisi flap kulit dan jaringan dibawahnya kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk dihitung jumlah rata-rata neovaskular perlapangan pandang.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Hasil*

#### **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 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 perpasangan didapatkan perbedaan yang signifikan antara volume seroma kelompok kontrol dan kelompok bleomisin dimana volume kelompok bleomisin lebih kecil dari pada kontrol ( $p=0,001$ ).

### ***Vascular endothelial growth factor (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  $p=0,002$ .

Tabel 1. Hasil Uji Beda volume seroma, kadar VEGF, dan jumlah pembuluh darah berdasarkan perlakuan

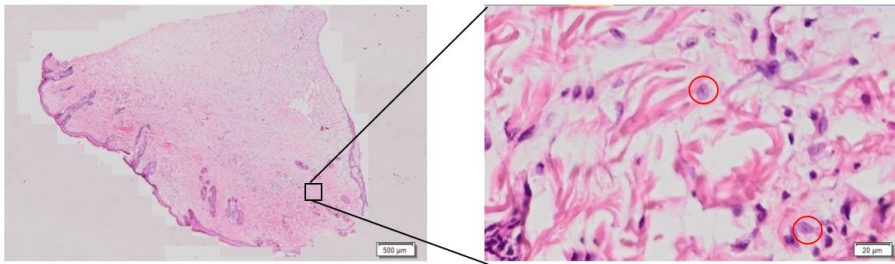
Variabel	Kelompok	Rata-rata	Standart Deviasi	P
Volume Seroma	Kontrol	3.090	1.7013	0,001*
	Bleomisin	0.460	0.4377	
VEGF Seroma	Kontrol	39.1250	16.451634	0,002*
	Bleomisin	4.05000	1.942936	
Jumlah pembuluh darah	Kontrol	9.470	3.5106	0,002**
	Bleomisin	2.490	0.6806	

\* Uji T tidak berpasangan

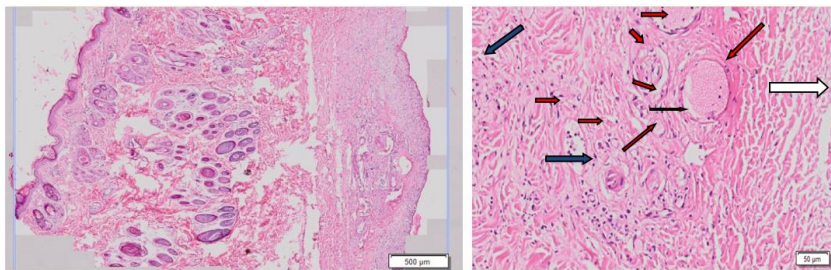
\*\* Uji Mann Whitney

### **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.



Gamabr 2. Jaringan seroma Kelompok bleomisin, Gambaran pembuluh darah dalam jaringan dengan perbesaran 400X (pembuluh darah dalam lingkaran merah)

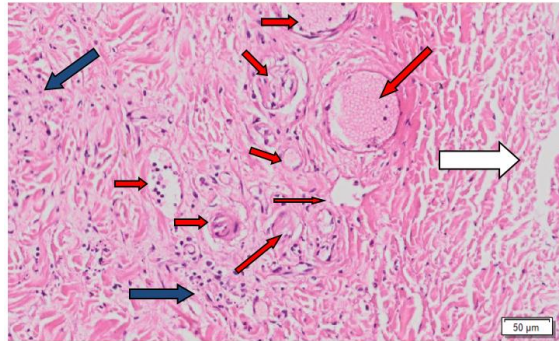


Gambar 3. Jaringan seroma Kelompok Kontrol, Gambaran pembuluh darah dalam jaringan dengan perbesaran 400X (Pembuluh darah ujung tanda panah)

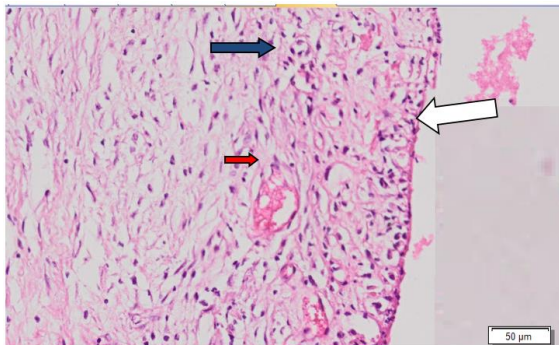
### **Gambaran Histopatologi**

Dari gambaran mikroskopis pada jaringan flap kelompok kontrol (gambar 4) selain didapatkan neovaskularisasi dalam jumlah yang banyak juga didapatkan serbukun 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 serbukun 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 Al-gaithy 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. 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 (Monaco *et al.*, 2003). Pemberian secara intralesi dipilih karena pemberian secara intralesi mempunyai waktu paruh, dosis maintenance yang lebih lama bila dibandingkan dengan pemberian secara intravena dengan efek klinis tidak berbeda serta efek samping yang sangat minimal (Duncan 2004; Sandlas *et al.*, 2011; Bajpai dan Bajpai 2011).

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 faktor utama untuk pencegahan angiogenesis atau kongesti vaskular. Penurunan dari angiogenesis dan kongesti vaskular dapat mengurangi penumpukan cairan plasma dan refluks cairan dari ujung kapiler menuju permukaan daerah yang sakit (Clarke 2009; Indraccolo 2010; Gauglitz *et al.*, 2010).

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 (Matsuyama *et al.*, 2010). 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 (Archana *et al.*, 2021).

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 skleroting agent dalam menurunkan angiogenesis berhubungan dengan nekrosis dari jaringan (Clarke 2009). Scleroting agent dapat secara signifikan mempengaruhi pola mikrovessel seperti pembentukan formasi loop interkoneksi atau percabangan mikrovessel. Efek sitotoksik bleomisin pada mikrovessels yang berlimpah cabang dan terminal vessel dapat menghasilkan toksisitas pembuluh darah yang signifikan dan mengakibatkan flap iskemia dan nekrosis (Indraccolo 2010; Gauglitz *et al.*, 2010). Pada penelitian ini tidak ditemukan flap yang nekrosis dikarenakan menggunakan dosis yang umum digunakan pada limfangioma, hemangioma dan hygroma intralesi.

Pada penelitian menggunakan assay angiogenesis *in vitro* menggunakan Sel endotel mikrovaskuler 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*).

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 (Turk *et al.*, 2014). Penelitian serupa yang telah dilakukan oleh Al Gaithy, pada pemanenan 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 (van Bastelaar *et al.*, 2019).

Diperkirakan bahwa seroma merupakan eksudat yang dihasilkan dari reaksi inflamatory atau juga bisa berasal dari liquifaksi jaringan

lemak atau limfe (Egeli *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2011). Pada hari pertama setelah operasi, cairan drainase mengandung darah dan creatine phosphokinase (CPK) yang tinggi. Setelah itu berubah mirip cairan lymfa tetapi 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. Seroma adalah eksudat dari proses inflamasi akut sebagai respon dari trauma akibat pembedahan dan merupakan fase akut dari penyembuhan luka (Sampathraju *et al.*, 2010). Komposisi cairan seroma bukan merupakan akumulasi dari serum namun merupakan eksudat (Narasimhappa dan Bobburi 2020). 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 extravasasi 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.

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 VEGF seroma dan jumlah neovaskularisasi perlapangan 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. 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. 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.

### **SIMPULAN**

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.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada Universitas Brawijaya Malang atas fasilitas yang telah disediakan.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Archana, A., Patel, P. S., Kumar, R., & Nath, G. (2021). Neutralizing antibody response against subcutaneously injected bacteriophages in rabbit model. *VirusDisease*, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s13337-021-00673-8>
- Bajpai, H., & Bajpai, S. (2011). Comparative analysis of intralesional sclerotherapy with sodium tetradecyl sulfate versus bleomycin in the management of low flow craniofacial soft tissue vascular lesions. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 11(1), 13–20. <https://doi.org/10.1007/s12663-011-0325-7>
- Clarke L. (2009). 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.

- Duncan, I. C., & Van Der Nest, L. (2004). Intralesional bleomycin injections for the palliation of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 25(7), 1144–1146.
- Egeli, T., Sevinc, A. I., Bora, S., Yakut, M. C., Cevizci, T., Canda, T., & Sisman, A. R. (2012). Microporous polysaccharide hemospheres and seroma formation after mastectomy and axillary dissection in rats. *Balkan Medical Journal*, 29(2), 179–183. <https://doi.org/10.5152/balkanmedj.2012.005>
- Gauglitz, G. G., Korting, H. C., Pavicic, T., Ruzicka, T., & Jeschke, M. G. (2010). Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Molecular Medicine*, 17(1–2), 113–125. <https://doi.org/10.2119/molmed.2009.00153>
- Indraccolo S. (2010). Interferon-alpha as angiogenesis inhibitor: learning from tumor models. *Autoimmunity*, 43(3), 244–247. <https://doi.org/10.3109/08916930903510963>
- Matsuyama, K., Ogata, N., Matsuoka, M., Wada, M., Nishimura, T., & Takahashi, K. (2010). Effects of intravitreally injected bevacizumab on vascular endothelial growth factor in fellow eyes. *Acta Ophthalmologica*, 88, 0. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2010.391.x>
- Monaco, J. L., & Lawrence, W. (2003). Acute wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0094-1298\(02\)00070-6](https://doi.org/10.1016/s0094-1298(02)00070-6)
- Narasimhappa, R., & Bobburi, V. (2020). A study of factors influencing seroma formation after radical modified mastectomy. *Journal of Evidence Based Medicine and Healthcare*, 7(14),

743–747. <https://doi.org/10.18410/jebmh/2020/162>

Rahmi, A., Setiyono, A., & Juniantito, V. (2015). Curcumin effect on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in *Mus musculus*. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 20(2), 1–8. <https://doi.org/10.14334/jitv.v20i2.1169>

Sampathraju, S., & Rodrigues, G. (2010). Seroma formation after mastectomy: pathogenesis and prevention. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 1(4), 328–333. <https://doi.org/10.1007/s13193-011-0067-5>

Sandlas, G., Kothari, P., Karkera, P., & Gupta, A. (2011b). Bleomycin: A worthy alternative. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 44(1), 50. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.81443>

Sandlas, G., Kothari, P., Karkera, P., & Gupta, A. (2011b). Bleomycin: A worthy alternative. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 44(1), 50. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.81443>

Turk, E., Karagulle, E., Coban, G., Yildirim, E., & Moray, G. (2014). Effect of Topical Tetracycline on Seroma Formation in the Lichtenstein Technique: A Prospective Randomized Study. *International Surgery*, 99(2), 147–152. <https://doi.org/10.9738/int surg-d-13-00199.1>

van Bastelaar, J., Granzier, R., van Roozendaal, L., van Kuijk, S., Lerut, A., Beets, G., Hadfoune, M., Olde Damink, S., & Vissers, Y. (2019). Analysis of TNF- $\alpha$  and interleukin-6 in seroma of patients undergoing mastectomy with or without flap fixation: is there a predictive value for seroma formation and its sequelae? *Surgical Oncology*, 28, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2018.11.001>

Wolfram, D., Tzankov, A., Pülzl, P., & Piza-Katzer, H. (2009).

Hypertrophic scars and keloids—a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management. *Dermatologic Surgery*, 35(2), 171–181. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2008.34406.x>

Yilmaz, K. B., Dogan, L., Nalbant, H., Akinci, M., Karaman, N., Ozaslan, C., & Kulacoglu, H. (2011). Comparing scalpel, electrocautery and ultrasonic dissector effects: the impact on wound complications and pro-inflammatory cytokine levels in wound fluid from mastectomy patients. *Journal of Breast Cancer*, 14(1), 58. <https://doi.org/10.4048/jbc.2011.14.1.58>