

太赫兹波与拉曼光谱技术在脑创伤检测中的应用研究

李海滨^{1,2}, 王与焱^{1,2*}, 王泽龙^{1,2}, 徐炳烽^{1,2}, 徐德刚^{1,2}, 姚建铨^{1,2}

(1. 天津大学 精密仪器与光电子工程学院 激光与光电子研究所, 天津 300072;

2. 天津大学 光电信息技术教育部重点实验室, 天津 300072)

摘要: 脑创伤是危害人类健康最严重的疾病之一, 灵敏快速的检测方式是对其进行准确有效治疗的有力保障。太赫兹波和拉曼光谱技术因其在技术上的互补性, 在生物医学诊断等领域有着广泛的应用前景。本文针对脑创伤检测方面的需求和难点, 总结了太赫兹波和拉曼光谱技术在脑创伤检测中的应用研究。首先介绍了太赫兹成像技术与光谱技术的发展现状, 并分别介绍了两种技术在脑创伤检测中的应用研究; 除此之外, 文章概述了拉曼光谱的原理及分类, 并讨论了拉曼光谱技术在脑创伤组织、体液及生物标志物检测中的研究进展。最后, 文章对太赫兹波与拉曼光谱技术在脑创伤的检测中的发展趋势进行了分析, 为太赫兹波与拉曼光谱技术应用于脑创伤的快速、准确诊断中提供了新的研究思路。

关键词: 太赫兹波; 拉曼光谱; 脑创伤; 太赫兹时域光谱; 机器学习
中图分类号: O43 **文献标识码:** A

Terahertz wave and Raman spectroscopy technology application in traumatic brain injury

LI Hai-Bin^{1,2}, WANG Yu-Ye^{1,2*}, WANG Ze-Long^{1,2}, XU Bing-Feng^{1,2}, XU De-Gang^{1,2}, YAO Jian-Quan^{1,2}

(1. Institute of Laser and Optoelectronics, School of Precision Instruments and Optoelectronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Key Laboratory of Optoelectronic Information Technology (Ministry of Education), Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Traumatic brain injury is one of the most serious diseases that endanger human health. Sensitive and rapid detection method is a kind of powerful guarantee for the accurate and effective treatment of traumatic brain injury. In recent years, terahertz (THz) wave and Raman spectroscopy have broad application prospects in biomedical diagnosis and other fields due to their complementarity in technology. In this article, the researches of terahertz wave and Raman spectroscopy technology in traumatic brain injury detection were summarized in response to the needs and difficulties of traumatic brain injury diagnosis. Firstly, the development status of THz imaging and THz spectroscopy technology was introduced, and the applications of the two technologies in traumatic brain injury detection were also introduced, respectively. In addition, the principle and classification of Raman spectroscopy were summarized, and the research of Raman spectroscopy in the detection of traumatic brain injury tissues, body fluids, and biomarkers were discussed. Finally, the development trend of THz wave and Raman spectroscopy in the detection of traumatic brain injury was analyzed, which provides a new research idea for the application of THz wave and Raman spectroscopy in the rapid and accurate diagnosis of traumatic brain injury.

Key words: terahertz wave, Raman spectroscopy, traumatic brain injury, terahertz time-domain spectroscopy, machine learning

收稿日期: 2025-02-05, 修回日期: 2025-02-27

Received date: 2025-02-05, Revised date: 2025-02-27

基金项目: 国家自然科学基金 (62175182, U22A20353, 62275193, U22A20123), 天津市青年科技人才项目 (QN20230204)。

Foundation items: Supported by the National Natural Science Foundation of China (62175182, U22A20353, 62275193, U22A20123); the Young Scientific and Technological Talents (level two) in Tianjin (QN20230204)。

作者简介 (Biography): 李海滨 (1998—), 女, 河北保定人, 博士研究生, 主要研究领域为太赫兹波生物成像, E-mail: haibin_li@tju.edu.cn

* 通讯作者 (Corresponding author): E-mail: yuyewang@tju.edu.cn

引言

脑创伤(Traumatic brain injury, TBI)是指由头部受到打击、异物穿透颅骨或头部突然运动引起的一种创伤性脑部疾病,根据创伤的成因不同,可以将脑创伤分为撞击性脑创伤(Impact-induced, TBI)和冲击性脑创伤(Blast-induced TBI, bTBI)。其中,撞击性脑创伤一般由跌倒和道路交通事故所导致,是最常见的脑创伤类型;另一种冲击性脑创伤一般由冲击波引起头部突然加速或减速所导致,在爆炸性事故中较为常见^[1]。据美国疾控中心的统计数据显示,在美国,每年约有170万人因脑创伤入院治疗,死亡率能达到17.6例/10万人^[2]。由于损伤的严重程度、原因和位置的不同,不同类型的脑创伤的病理生理学也有很大的不同。撞击性脑创伤通常伴有不同程度的脑水肿以及创伤组织内部及其周围呈现“弥散性半影”的缺血状态^[3];冲击性脑创伤往往会给脑组织造成整体的弥散性损伤,并且在临床上伴随着难以观察的水肿或缺血的症状^[4]。目前,临床上用于脑组织创伤诊断检测的方法主要分为三类:神经功能评估^[5]、影像学检查^[6]和生物标志物检测^[7]。其中,神经功能评估主要通过格拉斯哥昏迷量表^[8]、军用急性脑震荡评估^[9]等评分方法对脑创伤严重程度进行初步评价,其评价标准相对简单,评价结果具有一定主观性,诊断结果准确性较差。影像学检查是目前最常见的脑创伤检测方法,主要通过计算机断层扫描(Computed Tomography, CT)^[10]、核磁共振成像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)^[11]、弥散张量成像(Diffusion Tensor Imaging, DTI)^[12]、正电子发射断层扫描(Positron Emission Computed Tomography, PET)^[13]等临床神经影像学方法对脑创伤组织进行成像检测,但这些方法仍存在灵敏度较低、特异性较差等不足,且常规的CT、MRI等技术对轻度脑创伤不敏感,检测准确性较低^[14]。基于体液的生物标志物检测方法具有样品收集方便的优势,在脑损伤相关机制的实验研究中应用广泛。目前,常用于生物标志物诊断方法主要有酶联免疫吸附测定(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)、蛋白免疫印迹(Western Blot, WB)、高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)等方法,这些方法均存在耗时长、成本高等不足,不适合用于大规模诊断^[15]。因此,探索一种新型的脑创伤检测手段,对脑创伤的严重程度进行分级诊断具有十分重要的意义。

太赫兹(Terahertz, THz)波是指频率位于0.1~10 THz的电磁波(1 THz=10¹² Hz),其波长范围为0.03~3 mm,位于远红外与微波的交界处,如图1所示。该频段正处于经典电子学理论向光子学理论的过渡区,因此与微波、红外光波等其他波段的电磁波相比,THz波具有低光子能量、指纹谱、穿透性、对水敏感等特性。鉴于这些特性,近年来THz技术已经被广泛应用于医疗、军事、安检等各个领域,特别是在生物医学领域,THz技术已经在皮肤癌^[16]、乳腺癌^[17]、脑胶质瘤^[18]等的检测应用方面取得了巨大的发展。鉴于脑创伤组织常伴随水肿或缺血等症状,而THz波对生物组织中的水分分布、含水量和细胞密度等较为敏感,因此,可以采用THz波谱和成像检测技术对不同类型、不同程度的脑创伤进行检测。

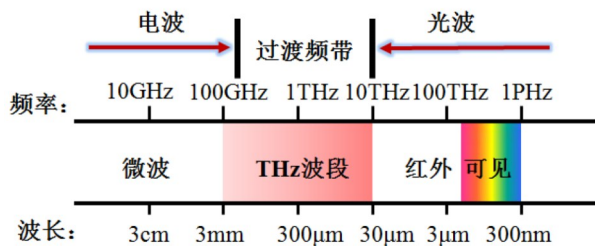


图1 太赫兹波的频率范围及其在电磁波谱中所处的位置
Fig. 1 The frequency range of THz wave and its position in the electromagnetic spectrum

拉曼(Raman)光谱作为一种分子散射谱,可以反映样品中分子对称性振动/转动和非极性基团振动/转动导致分子形变引起的极化率的改变,能够对生物大分子中具有拉曼活性的振转能级进行表征。传统的拉曼光谱范围主要集中在200 cm⁻¹至2 000 cm⁻¹波数范围内,可对物质官能团的化学信息进行表征。随着滤波技术的发展,拉曼光谱的范围已经扩展到低频(THz)波段,该波段范围包含大量的蛋白质、脂质、DNA等生物分子的特征信息^[19-22],能够获得大分子中碳链或环的结构信息,从而在分子和细胞水平上反映生物组织化学组分和分子结构上的特异性差异。相较于其他传统检测手段,拉曼光谱技术具有操作简单、指纹性、对水不敏感性等优势,已经被应用于生物医学领域的各个方面。

综上,THz光谱与成像技术主要基于分子非对称性振转能级和极性基团的振转能级对THz波的吸收,而拉曼光谱则是分子对称性振转能级和非极性基团的振转能级对激发光的散射,两者虽然均为研

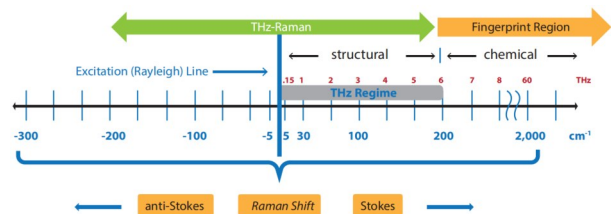


图2 拉曼光谱范围及其所反映信息示意图

Fig. 2 The spectral range of Raman spectroscopy and the schematic diagram of the spectral information

究分子振动/转动的重要手段,但产生原理截然不同,分别反映了组织内特异性分子具有的红外活性和拉曼活性,其表征的特异性信息互为补充。同时,拉曼光谱还可以弥补THz波受水环境干扰大的技术瓶颈。通过结合THz波和拉曼光谱,可以更全面的获取生物大分子敏感指纹谱段的“多模式光谱信息”,对于实现不同类型、不同程度的脑创伤检测具有重要意义。

1 太赫兹波在脑创伤检测中的应用

1.1 太赫兹成像技术在脑创伤检测中的应用研究

1995年,THz波成像系统被首次提出^[23],该系统采用二维扫描的方式逐点采集像素实现了THz波透射式成像。之后,随着THz源和探测技术的发展,多种不同模式的THz波成像系统逐渐被提出和研究,根据成像系统中辐射源的不同,可将THz成像系统分为连续THz成像系统和脉冲THz成像系统,其中,连续THz成像系统通常通过探测THz波与样品作用前后的信号强度信息来进行成像,其系统结构较简单且成像速度较快;而脉冲THz成像系统虽然较为复杂,但其能够同时获得样品的时域、频域光谱信息,从而获得样品的吸收系数、折射率等光学参数。根据成像方式的不同,可以将成像系统分为透射式、反射式和衰减全反射式(ATR)成像系统。其中,THz透射式成像系统最早被实现和研究,该方式通过THz波与样品作用后的透射信号进行成像,对样品厚度有一定要求,常用于对离体组织切片的检测。在此基础上,THz反射式成像系统被提出,该成像方式无需对样品进行预处理,可以实现对生物组织的原位在体成像^[24]。THz ATR成像通过倏逝波与样品相互作用进行成像检测,具有较高的成像灵敏度,可用于液体样品^[25]、生物组织^[26]等样本的高灵敏成像检测。在上述传统THz成像技术的基础上,为了进一步突破衍射极限,基于微米量级的孔径装

置或微纳结构材料的THz近场成像技术被提出,目前实现THz近场成像的技术方法主要有基于亚波长尺寸孔径的THz近场成像技术^[27]、亚波长尺寸针尖局域增强THz近场成像技术^[28]、亚波长聚焦的THz近场显微成像技术^[29]、基于微纳结构材料制成的THz超透镜的THz近场成像技术^[30]等。但近场成像通常需要对孔径装置或微纳结构的精细结构进行设计,具有较大的实验难度,且成像步长较小导致成像耗时较长。除此之外,基于频率上转换探测的THz成像^[31]、基于纳米颗粒辅助的THz成像^[32]、基于穿透增强辅助试剂的THz成像^[33]等多种THz成像技术相继得到发展。

2018年,陆军军医大学西南医院Feng等人天津大学Wang等人合作,采用经典的Feeney's自由落体击打的方法,对成年雄性Sprague Dawley大鼠建立了动物撞击性脑创伤模型,并进行了THz成像技术用于不同程度颅脑创伤成像检测的研究^[34]。实验中采用连续THz波透射式成像系统对不同程度的脑创伤样品的切片组织进行成像检测,如图3所示,成像系统采用频率为2.52 THz的连续THz波辐射源,输出功率设为70 mW。将THz成像结果与核磁共振成像检测结果进行对比,如图4所示。结果显示,创伤脑组织的THz波成像结果与对照组THz成像结果具有明显的差异,且不同程度的脑创伤组织对THz波的吸收具有明显的差异,其平均透过率大小关系为对照组>轻度>中度>重度,这与核磁共振成像结果呈现的趋势相同。综合对比核磁共振成像和THz波成像结果,两者均可以实现不同程度颅脑创伤的成像检测,而THz波成像具有更高的灵敏度。

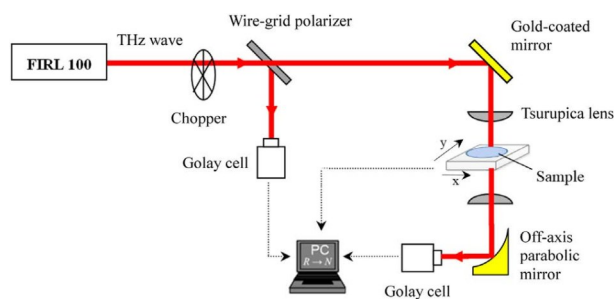


图3 太赫兹透射式成像系统示意图

Fig. 3 Schematic of THz transmission imaging setup

此外,为了进一步展示THz波对脑创伤的成像效果,该课题组提出了一种基于多深度切片THz波成像的三维重构技术,通过对创伤脑组织不同深度

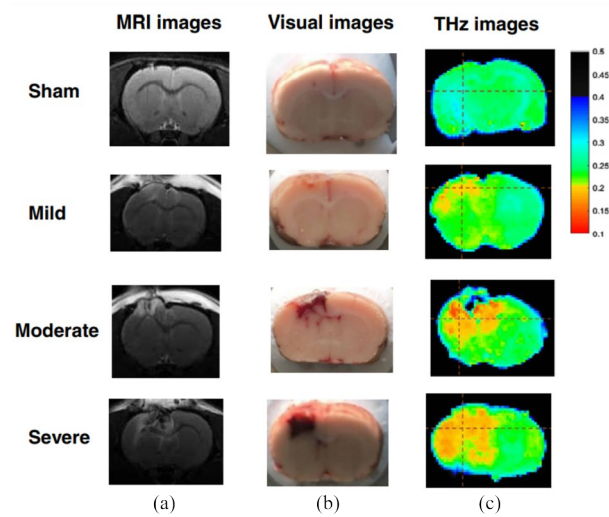


图4 不同程度脑创伤组织的(a)核磁共振成像结果,(b)实物图,(c)太赫兹波成像结果
Fig. 4 (a) MRI images, (b) visual images, (c) THz images of fresh brain tissues without and with different degrees of traumatic brain injury

的切片进行成像,并采用三维重构技术对切片的成像结果进行三维建模,实现了大鼠脑创伤组织的THz吸收特性重构^[35],清楚地显示了创伤灶的三维分布,如图5所示。多深度切片成像技术为实现生物组织THz波三维成像提供了一种可行且有效的方法,有望应用于各种病变组织的病理学发展过程研究。

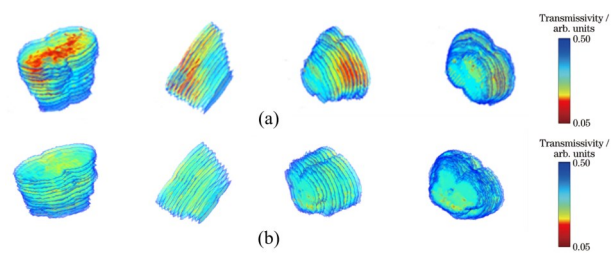


图5 (a)创伤鼠脑三维模型,(b)正常鼠脑三维模型
Fig. 5 Three-dimensional model of (a) traumatic brain injury rat brain sample and (b) normal rat brain sample

2018年,天津大学Shi等人在THz波透射式成像结果的基础上,通过形态学重构,实现了THz图像质量的增强,并构建了不同程度颅脑创伤组织的THz图像数据库,研究并建立了一种基于空间域强度分布特征和灰度直方图统计学分布特征的THz图像特征提取方法,设计和搭建了基于机器学习的THz波生物成像自动分类识别系统,实现了对颅脑创伤程度(假性、轻度、中度、重度)的自动分类

别,其识别准确率高达87.5%^[36]。在此基础上,该课题组基于THz衰减全反射(Attenuated Total Reflection, ATR)成像系统,对不同程度冲击性脑创伤大鼠脑组织进行了连续THz成像检测,并采用支持向量机(Support Vector Machine, SVM)分类器,实现了对不同创伤程度(假性、轻度、中度)的分类识别,其分类识别准确率可达86.36%^[37]。这种基于机器学习的检测方法实现了对不同创伤程度的脑组织的高准确率自动分类与识别,为精准神经外科领域提供了新方法。

1.2 太赫兹光谱技术在脑创伤检测中的应用研究

光谱技术是一种用来表征物体的介电特性的重要测试技术,它可以提供一个频率相关的函数,反映出物体在不同频率处的物理性质。太赫兹时域光谱技术(Terahertz Time-Domain Spectroscopy, THz-TDS)是一种基于太赫兹脉冲信号进行材料光谱分析的技术,利用THz脉冲的时域特性来研究物质在THz波段的响应。与传统的频域光谱方法不同,THz-TDS通过记录THz脉冲在时域上的传播过程,能够提供更高的时域分辨率和更丰富的物理信息。近年来,随着THz产生技术、探测技术和数据处理技术的进步,THz-TDS在材料科学、生物医学、化学分析等领域的应用得到了快速发展。

根据THz波与物质相互作用的形式不同,可以将THz波段的光谱检测技术分成:透射式^[38]、反射式^[39]和衰减全反射(ATR)式^[40]。如图6所示。在透射模式下,THz光路垂直于样品平面,通过检测透过样品前后的THz信号变化,可以获得样品的THz吸收光谱,进而可以分析得到样品的THz吸收系数、透过率、折射率等参数。由于THz对水分的吸收特性,透射式THz光谱在对生物组织进行检测时对其样品厚度具有较高要求,需要对其进行切片处理。除此之外,透射式THz光谱可用于检测固态分子(蛋白质、氨基酸、DNA等)的THz光谱^[41-43],通过对其特征吸收峰进行分析,进而实现对样品成分和结构的分析鉴定。反射模式可以避免透射模式受限于样品厚度的问题,能够实现对样品平整表面或近表面的THz特性表征,已被用于对生物组织^[44]、细胞^[45]和蛋白质^[46]等物质的检测研究中。ATR模式属于特殊的反射模式,该方式基于全内反射原理,首先使THz波以特定角度入射进入ATR棱镜,THz波在棱镜与样品之间的界面发生全内反射,从而激发在z方向指数衰减的倏逝波电场,利用倏逝波与样品相互作用

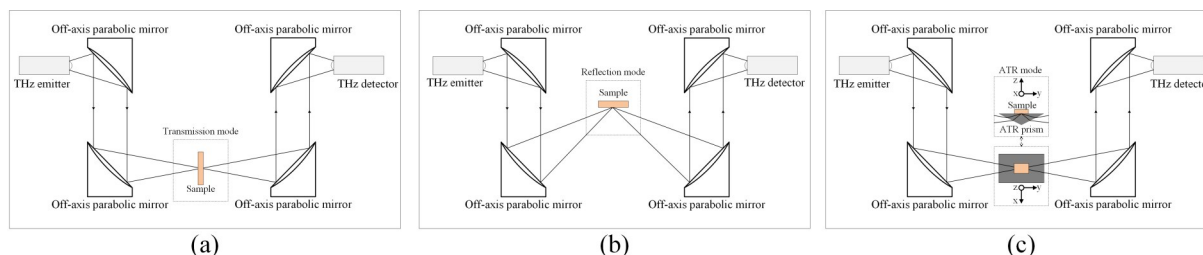


图6 THz光谱技术:(a)THz透射光谱示意图,(b)THz反射光谱示意图,(c)THz-ATR光谱示意图。

Fig. 6 Schematic of THz spectroscopy technology in (a) transmission mode, (b) reflection mode, and (c) ATR mode

用来获得样品的介电信息。这种检测方式无需对样品进行预处理,且具有较高的灵敏度,在生物样本、液体样本的检测研究中展现出很大的应用潜力。通过设计THz样品池^[47]或THz微流道芯片^[48],可实现对细胞、微量溶液等样品的高灵敏度THz光谱检测^[49, 50]。

2018年,天津大学Wang等人基于透射式THz时域光谱技术,对撞击性脑创伤的石蜡包埋脑组织进行了THz吸收波谱的测量^[34],其结果如图7所示,该结果表明不同创伤程度的脑组织对THz波的吸收具有明显的差异,其吸收系数大小关系为重度创伤>中度创伤>轻度创伤>对照组,尤其是重度创伤组织对THz波的吸收明显高于其他几种创伤程度,这一变化关系能够准确反映出脑创伤的严重程度,为后续THz波谱技术在脑创伤检测中的进一步研究奠定了基础。

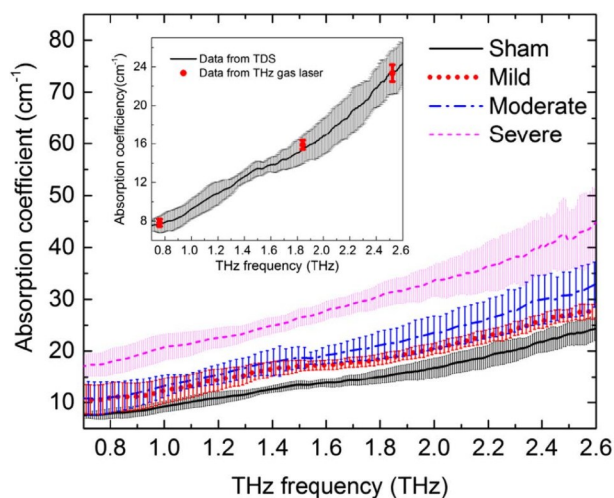


图7 不同创伤程度石蜡包埋脑组织的太赫兹吸收波谱

Fig. 7 THz absorption spectroscopy of paraffin-embedded brain tissue with different degrees of traumatic brain injury

在此基础上,该课题组基于THz衰减全反射时域光谱技术,研究了不同创伤程度的冲击性脑创伤

大鼠的脑脊液和血清的THz光谱的变化规律^[51],如图8所示。其检测结果显示,大鼠受到冲击波损伤后,其脑脊液和血清中的成分会发生变化,通过THz光谱技术能够直观反映这些变化。这表明脑脊液和血清的THz光谱检测结果均可以在创伤后早期一定程度上反映机体所受脑创伤的严重程度,因此可以将其作为脑创伤诊断的检测方式。

为了进一步探究冲击性脑创伤的发病机制,特别是与神经系统有关的病理变化(如记忆丧失和创伤后应激障碍等),该课题组继续对创伤后不同时间节点(3 h, 6 h, 24 h)下丘脑和海马体的总蛋白的THz衰减全反射时域光谱进行研究,其结果如图9-10所示。其检测结果显示,在创伤后一段时间内,下丘脑和海马总蛋白的吸收系数均大于对照组,折射率均小于对照组,但下丘脑总蛋白的光谱变化出现得更早,差异也更加明显。这些现象表示冲击波对下丘脑和海马体的正常功能会造成一定影响,从而导致机体出现意识丧失和应激障碍等神经异常症状。

在上述研究成果的基础上,该课题组基于血清和脑脊液的THz吸收系数光谱,建立了相关的THz光谱数据库,分别利用支持向量机(Support vector machine, SVM)和k近邻(k-Nearest Neighbor, kNN)分类器模型对结果进行自动分类研究,其中,使用SVM模型的对脑脊液和血清的分类准确率最高分别达到了94.4%和95.5%^[51]。该方法实现了对不同脑创伤程度的自动识别,为研究THz技术在脑创伤检测中的应用提供了新的思路,对脑创伤的检测和预后工作具有重要意义。

2 拉曼光谱在脑创伤检测中的应用

2.1 拉曼光谱技术原理及分类

2.1.1 拉曼光谱的基本原理

拉曼现象最早由科学家C. V. Raman与K. S. Krishnan于1928年在利用汞灯观测液体苯的相关

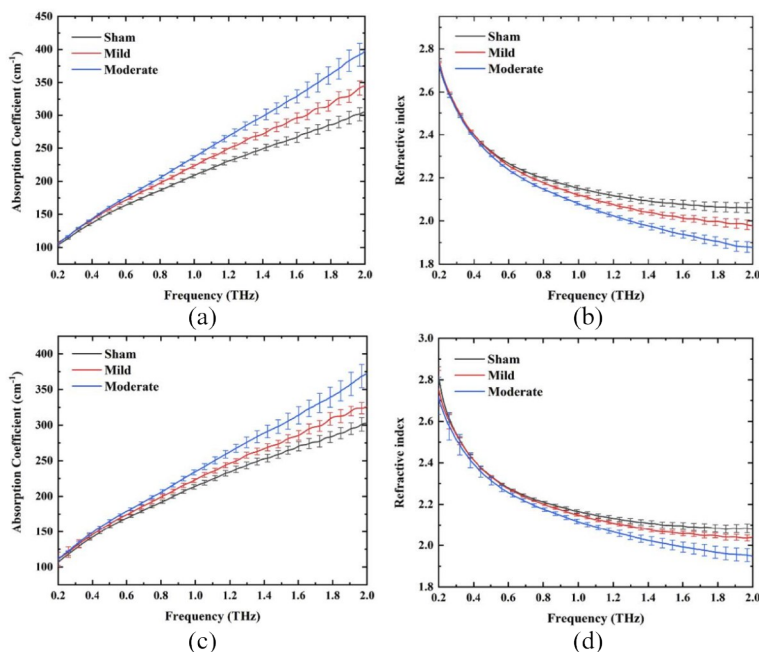


图8 创伤后血清的(a)太赫兹吸收系数光谱,(b)太赫兹折射率光谱;脑脊液的(c)太赫兹吸收系数光谱,(d)太赫兹折射率光谱

Fig. 8 (a) THz absorption coefficient spectroscopy, (b) THz refractive index spectroscopy of serum and (c) THz absorption coefficient spectroscopy, (d) THz refractive index spectroscopy of cerebrospinal fluid

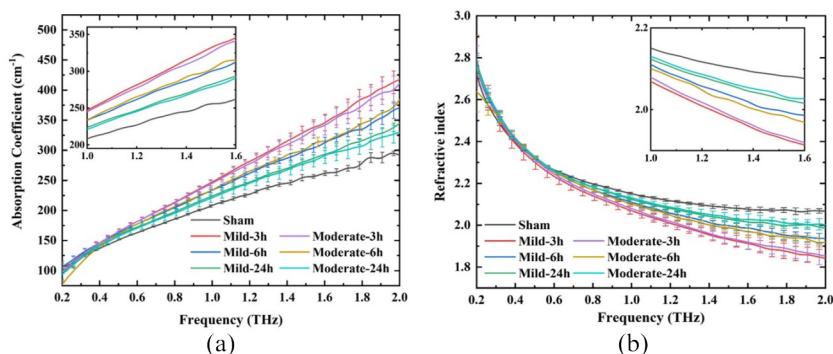


图9 不同时间节点大鼠下丘脑总蛋白的(a)太赫兹吸收系数光谱,(b)太赫兹折射率光谱

Fig. 9 (a) THz absorption coefficient spectroscopy, (b) THz refractive index spectroscopy of total protein in hypothalamic of traumatic brain injury rats at different time

实验中发现^[52]。当入射光作用到被测样品时,大部分光子与样品碰撞发生弹性散射,这部分光子的传播方向发生改变,频率并未发生改变,这种现象被称为瑞利散射,其散射光的强度约为入射光强的 10^{-3} – 10^{-4} 。同时,仍存在极少数的光子在与被测样品碰撞时,其传播方向和频率均发生改变,即发生了拉曼散射,所获得光谱即为拉曼光谱,其散射光的强度仅为入射光强的 10^{-6} 。

入射光与物质相互作用发生非弹性碰撞,当物质分子的振动频率发生改变时,其频率改变量被称为拉曼频移,如公式(1)所示

$$\Delta\nu = (E_1 - E_0)/h = \Delta E/h, \quad (1)$$

其中 h 为普朗克常数。由公式(1)可知,拉曼频移 $\Delta\nu$ 仅与两个能级之间的能量差 ΔE 有关,对同一分子两个能级之间的能量差是恒定的,两个能级之间的拉曼频移 $\Delta\nu$ 也是不变的,属于分子的固有属性,因此,拉曼光谱是一种分子振动的指纹谱,气相、液相和固相物质均可实现拉曼光谱检测。进一步,在入射光能量不改变分子结构和体系温度的情况下,无论哪种波长的激光入射,物质拉曼光谱的频率不会随之改变。因此,拉曼光谱既可以通过特征峰的位置对物质进行指纹识别,同时通过特征峰强度、半

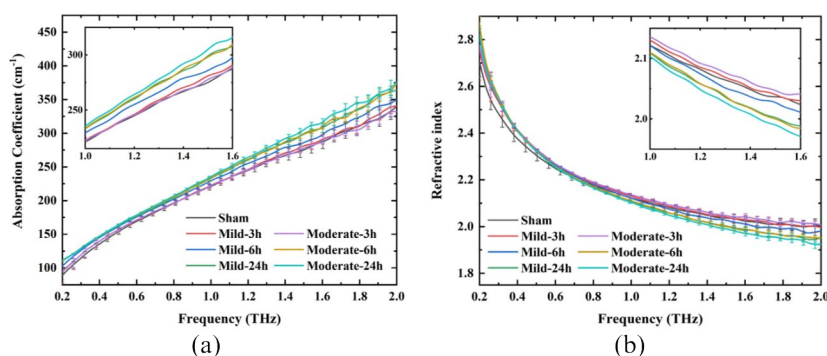


图10 不同时间节点大鼠海马体总蛋白的(a)太赫兹吸收系数光谱,(b)太赫兹折射率光谱

Fig. 10 (a) THz absorption coefficient spectroscopy, (b) THz refractive index spectroscopy of total protein in hippocampal of traumatic brain injury rats at different time

高全宽(Full Width at Half Maxima, FWHM)等信息可实现对样品的定性、定量分析。

2.1.2 自发拉曼光谱技术

自发拉曼光谱技术(Raman spectroscopy)是目前最常见的拉曼光谱技术,自发拉曼散射的产生仅与物质分子的振动频率在受激前后产生变化有关,因此被认为是表征分子振动特性的标准光谱。自发拉曼光谱系统结构相对简单,但其产生的拉曼散射信号强度相对较弱,为了满足不同微量样品的高灵敏度检测,显微拉曼光谱技术和共聚焦拉曼光谱技术等不同类型的自发拉曼光谱技术被提出。

通过将传统自发拉曼光谱与显微镜相结合发展出了显微拉曼光谱技术,其系统的横向分辨率由衍射极限决定,轴向分辨率取决于波长和显微镜的孔径。通过使用高倍数的显微物镜,可以将系统的激发光束聚焦在约1 μm 区域,生物样品的检测深度可达几百nm到1 μm ^[53, 54]。目前,显微拉曼光谱技术已经被广泛应用于各种光电子材料^[55]、生物医学^[56]、化学^[57]等多个领域。

将传统的拉曼光谱技术与共聚焦技术相结合发展出了共聚焦拉曼光谱技术。该技术通过针孔滤波实现了光谱成像分辨率的提升。共聚焦拉曼光谱系统中,照明针孔与共焦针孔相互共轭,当激发光经照明针孔滤波后聚焦到样品表面,从样品中反射回的信号聚焦于探测针孔上,而非共焦信号及其他噪声信息均无法进入探测针孔。因此,系统在分辨率和信噪比等方面均得到了明显提高。1900年Puppel等人首次将共聚焦拉曼光谱技术用于活细胞及其染色体分析中^[58]。目前该技术已经成为生物医学^[59, 60]、半导体^[61, 62]、新型材料^[63]等领域中常用的分子分析技术。

2.1.3 拉曼增强光谱技术

为了进一步提高拉曼散射信号强度,多种拉曼散射增强技术被提出。根据增强机制不同,拉曼散射增强技术主要包含共振拉曼散射、表面增强拉曼散射以及基于相干拉曼散射的受激拉曼散射和相干反斯托克斯拉曼散射。

(1)共振拉曼散射技术(Resonance Raman Scattering, RRS):当入射激发光子能量与待测样品分子的电子跃迁的能量接近或重合时,两者发生共振,导致光子与分子相互作用效率大幅提升,从而使拉曼散射强度提升至与瑞利散射相同的水平,拉曼光谱的检测灵敏度也随之提升^[64]。因此,RRS对特定分子的振动模式有着特定的激发频率,因此具有高选择性,可以实现对特定分子的识别^[65]。目前,RRS技术因其在低浓度生物物质和化学化合物识别中的高灵敏特性,使其在生物化学研究领域得到较广泛的应用^[66-68]。但由于RRS技术的作用原理,在使用时必须保证其激发光波长与样品的电子发色团频率相匹配,导致其适用范围受到极大限制。除此之外,过高的激发强度引起的光热损伤与高吸收导致的荧光信号均会对RRS技术的检测结果产生影响。

(2)表面增强拉曼技术(Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS):1974年,Fleischmann等人首次观测到吸附到银电极粗糙表面的吡啶分子的拉曼位移会随着电极电位的变化而发生偏移,且拉曼散射信号强度的随之变化,这一现象被称为表面增强拉曼散射^[69]。SERS的作用机制主要包括电磁增强和化学增强两种。其中,电磁增强主要是通过金属纳米粒子的局部表面等离子体共振从而增强拉曼散射信号^[70]。电磁增强效应能够将分子的拉曼信号提升6~14个数量级,这一性质与待测分子本

身无关,与金属纳米颗粒的形状、间距、待测分子与金属纳米颗粒表面的吸附程度等有关。目前,电磁增强效应的理论解释相对清晰,而化学增强的理论解释还有待进一步探索。由于SERS技术具有检测速度快、特异性强和灵敏度高等特点,已经成为表征生物分子^[71-73]、细胞及细胞过程^[74-76]、组织^[77]等多种生物样本的检测手段。但是该技术对金属纳米颗粒的均一度、清洁度和生物相容性等要求较高,技术难度较大。并且由于SERS极高的灵敏度,在光谱采集过程中对激发光的波长、强度、曝光时间及检测环境、样品状态等因素要求较高^[78]。

(3)相干拉曼技术(Coherent Raman Scattering, CRS):随着激光产生技术和多通道探测技术的发展,基于非线性光学的相干拉曼技术得到了发展。其中,相干反斯托克斯拉曼散射(Coherent Anti-Stokes Raman Scattering, CARS)和受激拉曼散射(Stimulated Raman Scattering, SRS)是两种典型的相干拉曼技术。SRS和CARS技术通常使用泵浦光 ω_p 和斯托克斯光 ω_s 同时激发样品,通过调制泵浦光与斯托克斯光之间的频率差,使其与待测样品的化学键频率 Ω 相近,其中,SRS频率差为 $\Delta\omega=\omega_p-\omega_s=\Omega$,CARS散射频率为 $\omega_{as}=2\omega_p-\omega_s=\Omega$,对应分别产生SRS和CARS效应。根据两种效应的不同作用机理,CARS信号可以直接通过PMT、CCD等探测器进行表征,而SRS信号则需要通过对比泵浦光与斯托克斯光强度变化来进行表征。两种技术均可以实现拉曼信号强度的显著提升,且能够实现超快与超分辨的体内分子成像^[79, 80]。目前CARS技术已被广泛应用于活细胞动态过程^[81]、细胞凋亡监测^[82]等细微

的生物学信息的获取,以及病变组织中蛋白、脂质含量变化的定量分析^[83, 84]中。但CARS技术仍存在光谱需要去除非共振背景信号,且其特征峰会发生偏移、失真,指纹区信噪比较差等不足。与CARS技术相比,SRS技术无需去除非共振背景,且SRS信号与自发拉曼散射信号完全一致,可直接对其振动来源进行解析。目前,SRS技术已被用于蛋白质^[85]、脂质^[86]、组织^[87]等生物样本的检测中,并且在脑组织成像中开展了广泛的应用研究^[88-90],但其仍存在仪器设备复杂且昂贵、信噪比和灵敏度较低等不足,需要进行进一步研究。

2.2 拉曼光谱技术在脑创伤组织检测中的应用研究

2011年,Tay等人首次将拉曼光谱应用于脑损伤检测。采用Feeney's自由落体击打法建立了小鼠撞击性脑创伤模型,并在模型建立后提取小鼠新鲜脑组织,分别对损伤半球和非损伤半球脑组织中的运动皮层进行拉曼光谱检测^[91],结果如图11所示。结果表明,与非损伤半球脑组织相比,损伤半球脑组织拉曼特征峰数量与强度均发生变化,其中,损伤半球的 1660 cm^{-1} 处的拉曼特征峰强度减弱,同时在 1586 cm^{-1} 和 1618 cm^{-1} 波数处出现了两个新的尖锐特征峰。进一步对损伤脑组织进行免疫组织学分析发现, 1560 cm^{-1} 和 1640 cm^{-1} 两个特征峰与神经元Caspase 3表达的增加和细胞凋亡有关。该研究表明,拉曼光谱能够对脑创伤后脑组织中特征物质的变化情况进行检测,为未来的研究提供了基础。

为了进一步表征脑创伤后脑组织中不同区

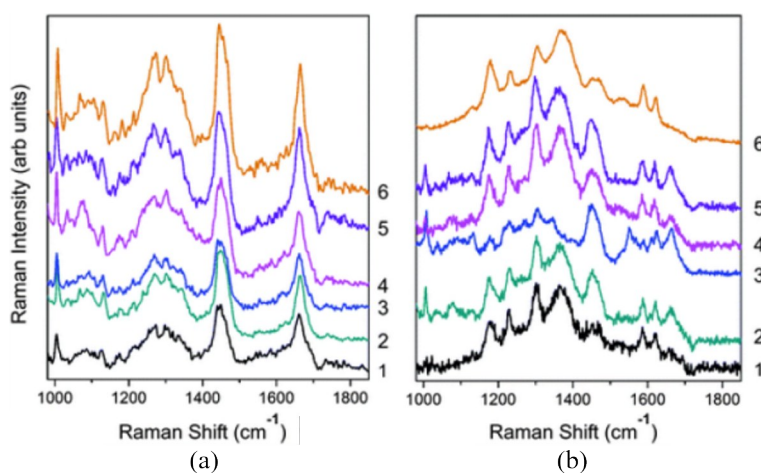


图11 健康和脑损伤小鼠大脑的拉曼光谱比较,(a)未损伤半球和(b)损伤半球脑组织运动皮层的拉曼光谱

Fig. 11 Comparative Raman spectroscopy of healthy and injured mice brains. Raman spectra from the (a) control and (b) injured motor cortices demonstrate consistent Raman shifts following injury

域、不同时间的变化,2017年, Surmacki 等人利用共聚焦拉曼显微系统对撞击性脑创伤小鼠脑组织进行研究,分别检测了急性重度脑创伤2天和7天后小鼠脑组织损伤中心、损伤周围及未损伤半球组织的拉曼光谱,并对其光谱差异进行研究^[92],如图12所示。结果表明,重度创伤2天和7天的脑组织拉曼光谱在损伤周围组织和损伤中心组织之间均存在明显差异。其中,损伤周围组织在 $1\,440\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,462\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,648\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,660\text{ cm}^{-1}$ 处的光谱差异较为显著;而损伤中心组织在多个拉曼特征峰处均表现出差异。分析可知,急性期脑创伤主要表现为出血,因此,与血红素相关的拉曼特征峰强度变化明显;而脑创伤7天后的光谱主要表现为与胆固醇相关的拉曼特征峰强度显著增加,这与损伤后细胞的修复过程有关。此外,在未损伤半球脑组织中也检测到了创伤前后拉曼光谱特性的变化,且光谱差异随创伤时间的变化而发生改变。该研究为脑创伤的诊断和治疗提供了新思路。2023年,天津大学 Ge 等人基于拉曼光谱系统对对照组、轻度、中度冲击性脑创伤大鼠脑组织进行研究,分别对对照组、轻度、中度冲击性脑创伤后3小时、6小时、24小时、48小时和72小时的大鼠脑组织中的海马区和下丘脑进行拉曼光谱检测,并对其光谱差异进行分析,如图13所示。结果表明,轻度和中度冲击性脑创伤组织在 $300\sim 1\,700\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,800\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$ 范围内的拉曼光谱在不同时间点与对照组相比有显著差异,造成差异的主要原因是冲击性脑创伤后海马区和下丘脑组织中蛋白质和脂质含量的变化。除此之外,在创伤后同一时间点时,不同级别脑创伤后(对照组、轻度和中度)海马区组织和下丘脑组织的拉曼特征峰的强度也存在明显差异。在此基础上,分别采用不同机器学习算法对不同创伤程度、不同时间

点的脑组织拉曼光谱进行自动分类识别,基于海马区和下丘脑组织的最高诊断准确率分别达95.3%和88.5%^[93]。

上述研究表明,拉曼光谱技术可用于研究脑创伤后脑组织中特定区域随时间变化的生化信息。在此基础上,拉曼光谱技术联合其他技术已被用于脑创伤检测中,以获取更丰富的生化信息。2018年, Khalenkov 等人将拉曼显微光谱技术与在体MRI技术结合,对轻度撞击性脑创伤1天和1周后大鼠胼胝体区域的光谱特性进行研究^[94],如图14所示。研究结果表明,与对照组相比,脑创伤1天后和1周后的大鼠脑组织的MRI T2图像均无明显变化。然而,基于拉曼特征峰 $2\,940/2\,850\text{ cm}^{-1}$ 的强度比绘制的损伤1周后大鼠胼胝体图像中出现约 $20\text{ }\mu\text{m}$ 的异常组织区域。分析表明,轻度脑创伤前后 $2\,600\sim 3\,100\text{ cm}^{-1}$ 范围内拉曼光谱存在差异,该差异主要表现为轴突蛋白与骨髓脂质蛋白浓度比下降,这可能与轻度脑创伤后的微出血有关。这一研究结果表明,拉曼显微光谱技术与在体MRI技术相互补充,可分别从宏观和微观角度,为轻度脑创伤引起的大鼠脑组织结构和分子变化提供重要信息。

2021年, Kawon 等人将拉曼显微光谱与傅里叶红外显微光谱相结合,对穿透性大鼠颅脑损伤模型进行检测研究^[95]。以损伤部位和海马区以及这些区域的皮质和白质为主要研究对象,检测过程示意图和结果如图15所示。结果表明,由于损伤部位脂质及含有磷酸盐和羟基化合物的累积量的显著降低,蛋白质和胆固醇/胆固醇脂的水平升高,因此在创伤30天后胶质瘢痕形成过程中会导致生物分子显著异常。此外,损伤半球脑组织和未损伤半球脑组织的海马颗粒层、锥体层、白质和皮层区域之间没有明显差异,这可能是由于海马区在分子层面的

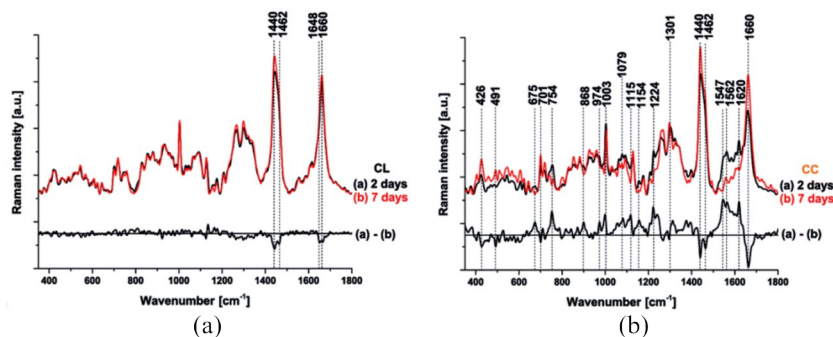


图12 (a)未损伤脑组织和(b)损伤中心处脑创伤后2天和7天的光谱差异

Fig. 12 Spectral differences of the average Raman spectral at 2 and 7 days after traumatic brain injury in (a) contralateral (CL) tissue and (b) contusion core (CC)

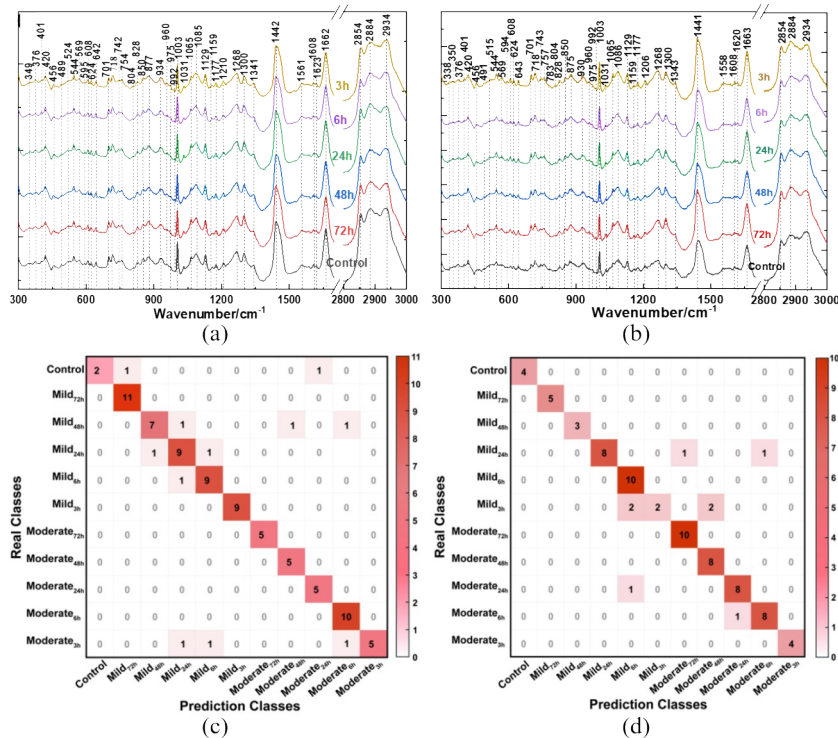


图 13 轻度冲击性脑创伤后不同时间点(a)大鼠海马区组织和(b)大鼠下丘脑组织的拉曼光谱;基于300~1 700 cm⁻¹和2 800~3 000 cm⁻¹波段数据融合后,(c)大鼠海马区组织,和(d)大鼠下丘脑组织的拉曼光谱的线性判别分析(Linear Discriminant Analysis, LDA)分类器的预测混淆矩阵

Fig. 13 (a) The Raman spectra of hippocampus tissue, (b) hypothalamus tissue after mild bTBI; the confusion matrix of LDA classifiers based on the Raman spectra of (c) hippocampus tissue, and (d) hypothalamus tissue

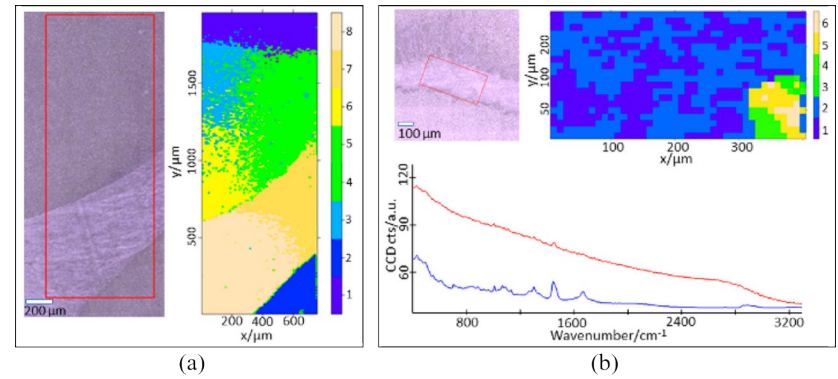


图 14 大鼠胼胝体区(a)左图和右图分别为光学显微图像和对应皮层和胼胝体区的拉曼显微图像(红色框区域);(b)左上和右上分别为光学显微图像和具有异常的相应胼胝体区的拉曼显微图像。右下为胼胝体的平均拉曼光谱(蓝色)和异常区域的拉曼光谱(红色)

Fig. 14 Light and Raman microscopy of the corpus callosum. (a) light microscope image (left panel) and the corresponding Raman microscope image of the cortex and corpus callosum produced by hierarchical clustering analysis (right panel). The area scanned with a Raman microscope is marked with a red rectangle. (b) light microscope image (top-left panel) and the corresponding Raman microscope image of the corpus callosum with an abnormal region (top-right panel). The mean Raman spectra of the corpus callosum (blue color) and the high intensity spectrum of the abnormal region (red color) are shown below (bottom panel)

损伤发生更早。除此之外,主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)结果表明,损伤内部和外部(皮层)的光谱在第一和第二主成分的空间具有

显著差异,而损伤边缘区域的光谱与其余两个区域光谱相似。该研究仅对傅里叶红外和拉曼光谱进行了单独分析,不同技术的综合联用及联合分析还

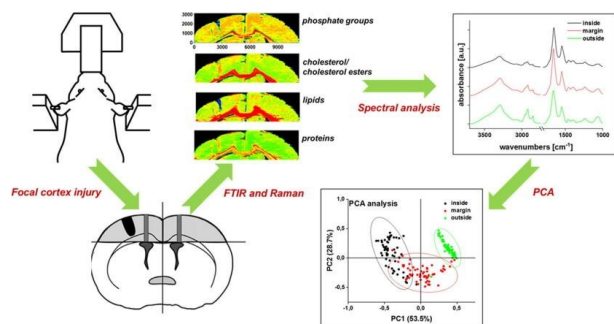


图 15 傅里叶红外显微光谱与拉曼显微光谱检测流程和分析结果

Fig. 15 Detection process and results of Fourier infrared microspectroscopy and Raman microspectroscopy

需进一步研究。

上述研究均针对离体全脑组织或脑组织切片进行拉曼光谱检测,进而对脑创伤后特定组织中的生化信息变化进行研究。在临床应用中,低创或无创检测技术对脑创伤的诊断、干预和预后也尤为重要。视网膜和视神经作为中枢神经系统的重要组成部分,其在颅内压升高时表现为可测量的物理变化,成为脑创伤检测和监测中的重要研究对象。2020 年, Banbury 等人首次采用拉曼光谱对小鼠脑创伤后视网膜进行离体光谱检测,并结合机器学习算法,对不同类型脑创伤进行分类识别研究^[96],结果如图 16 所示。与对照组相比,中度和重度脑创伤后脑组织和视网膜的拉曼光谱在 $1\,266\text{ cm}^{-1}$ 特征峰处均具有相同变化,且该变化与损伤严重程度呈正相关。除此之外,基于视网膜的拉曼光谱数据可对重度脑创伤进行良好的分类,分类准确率为 82.0% ,但对对照组和中度组的分类准确率较差,分别为 69.4% 和 75.1% 。该研究结果将眼部拉曼光谱的应用从纯眼科研究扩展到神经系统研究,实现了对大脑生化信息的间接和非侵入性检测,为未来神经系统的研究提供了一种新思路。

为了实现不同程度脑创伤后的受损脑组织的精确识别,开发适用于术中在体检测的手持式拉曼检测设备具有重要的临床意义。2021 年, Mowbray 等人设计、制造了一种新型拉曼探针设备,该设备基于拉曼光谱可实现对脑创伤相关的大脑生化信息变化的原位识别^[97],如图 17 所示。该设备选用生物相容性优异的钛材料,通过精密调节探头位置,确保其在开颅手术中的定位精度和最佳工作距离,从而最大限度提高探测信号的信噪比。此外,该团队还创新性地设计了模拟皮质冲击的人工颅骨模

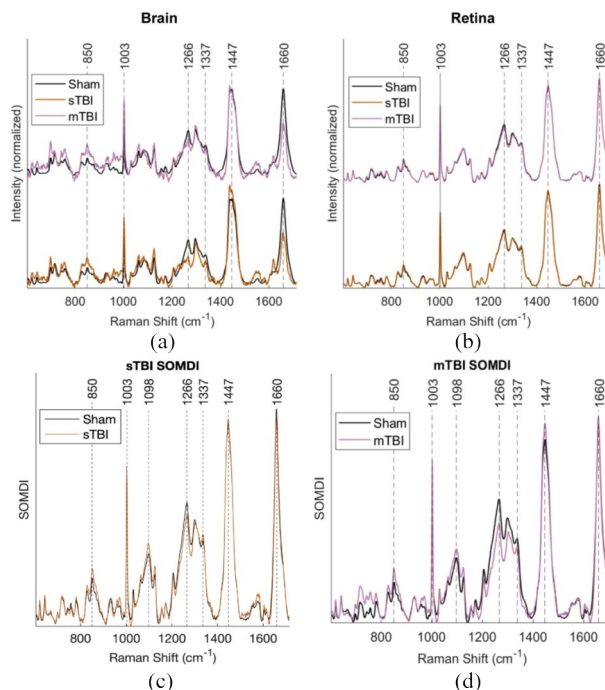


图 16 (a)损伤中心脑组织与(b)视网膜中对照组、中度和重度脑组织的平均拉曼光谱;(c)和(d)分别为通过 SOMs 特征提取后,重度和中度组与对照度视网膜的拉曼光谱对比

Fig. 16 (a) Average Raman spectra collected in the contusion core for mTBI and sTBI compared to the sham group, (b) average Raman spectra collected from flat mounted retina samples (both eyes), showing mTBI and sTBI compared to the sham group, (c) Raman spectra of sTBI compared to the sham group of retina, (d) Raman spectra of mTBI compared to the sham group of retina after feature extraction by SOMs

型,将探针精准插入大脑特定部位进行原位拉曼光谱检测。其检测结果与其他标准商用拉曼光谱系统获得的数据高度一致。该研究证明了实时脑光谱接口的技术可行性,为后续进一步通过优化设计、在体验证和临床试验实现临床检测标准化奠定了重要基础。

2.3 拉曼光谱技术在脑创伤体液及标志物检测中的应用研究

脑创伤后患者脑脊液、血液(或血浆、血清)等体液样本易于获取,并且其中包含多种脑创伤相关的生物标记物,如 S100 calcium binding protein β (S100 β)^[98]、glial fibrillary acidic protein (GFAP)^[99]、neuron specific enolase (NSE)^[100]、myelin basic protein (MBP)^[101]、ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1)^[102]、tau protein^[103]等。这些标记物不仅可以反映大脑中不同细胞成分的损伤水平,还可以反映患者全身的代谢和炎症变化,为脑创伤的诊断和

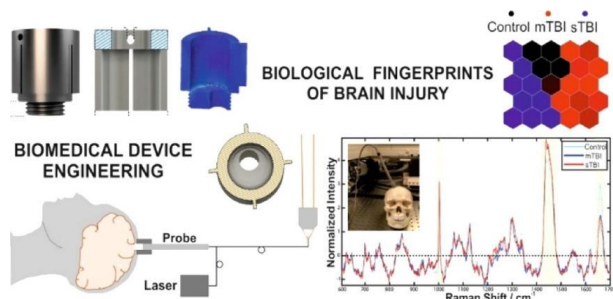


图 17 (左上)设计并制备出的探针;(左下)探头与光纤耦合获取颅内拉曼光谱示意图;(右图)对照组、中度和重度创伤后采用特征峰 1 447/1 660 cm^{-1} 峰值比绘制的彩色拉曼图像以及光谱差异对比

Fig. 17 Probe design (top-left panel), schematic diagram of the probe coupled to the optical fiber to acquire intracerebral Raman spectra (bottom-left panel), Raman images mapped using the characteristic peak 1 447/1 660 cm^{-1} peak ratio after control, moderate and severe traumatic brain injury (top-right panel) and spectral difference comparisons (bottom-right panel)

预后提供了重要信息。目前,多种体液和生物标志物已被用于评估脑创伤的严重程度以及患者的预后结果。

2017 年, Wang 等人分别对单次和多次冲击波损伤后,急性期内(24 小时)血液、脑脊液和脑组织中的 Chemokine (C-C motif) ligand 2 含量进行研究,研究表明,单次和多次冲击性损伤后,急性期内血液、脑脊液和脑组织中的 Chemokine (C-C motif) ligand 2 含量均显著增加,这与爆炸后的神经退行性过程有关^[104]。除了急性期症状,脑创伤后患者往往会长期遭受头痛、失眠、焦虑、记忆性减退等困扰,因此体液及生物标志物的长期监测对于慢性以及轻度脑创伤的诊断和预后至关重要。

2018 年, Zhang 等人发现哺乳动物毛囊中的六种 miRNAs 可以反映轻度冲击性脑创伤相关性^[105]。2019 年, Miguel 等人证明轻度冲击性脑创伤 6 周后,与血管相关的 GFAP 和几种神经元中间丝蛋白的表达水平降低,在 8 个月部分恢复到正常水平^[106]。2021 年, Arun 等人研究了大鼠脑脊液中 Neuron-specific phosphorylated neurofilament heavy chain (pNFH) 的表达与单次/多次重复性冲击波引起的急性和慢性脑创伤之间的关系。结果表明, pNFH 水平会在 24 h 内升高,1 个月后会恢复正常,但在 6 个月和 1 年再次升高,并且单次和多次冲击伤之间没有观察到显著变化^[107]。2023 年,该课题组进一步研究了脑脊液中溶血磷脂酸在冲击波脑创

伤后的变化情况。结果表明,溶血磷脂酸在急性期内增加,在 1 个月后恢复到正常水平,但在 6 个月和 1 年时与对照组相比均呈显著增加^[108]。2023 年,天津大学 Ge 等人对对照组、轻度、中度冲击性脑创伤后 3 小时、24 小时、48 小时、72 小时大鼠血清的拉曼光谱特性进行研究^[109],如图 18 所示。结果表明,与对照组相比,800~3 000 cm^{-1} 波数范围内的拉曼部分特征峰位置和强度均表现出明显差异。进一步采用 PCA 分别与二次判别分析(Quadratic Discriminant Analysis, QDA)、SVM、kNN 以及神经网络(Neural Networks, NN)四种机器学习分类器相结合,实现了对对照组及不同时间轻度、中度冲击性脑创伤的自动分类识别,最高分类准确率为 95.4%。同年, Harris 等人对 18 种脑创伤相关生物标志物粉末及水溶液的拉曼光谱进行检测^[110],形成了脑创伤相关生物标志物的拉曼光谱数据库,该研究为快速、准确、非侵入性诊断治疗脑创伤提供了一条切实可行的道路。

3 太赫兹波与拉曼光谱联用技术在生物医学领域的应用研究

由于 THz 波和拉曼光谱在生物分子模式表征上的互补特性,使 THz 波与拉曼光谱联用技术在手性分子、生物特征物质构象表征与分析等方面具有广泛的应用前景。2017 年, Cai 等人基于 THz 时域光谱与拉曼光谱对抗病毒药物阿昔洛韦、富马酸及其共晶的振动光谱进行了实验研究,并基于密度泛函理论对阿昔洛韦和富马酸之间不同形式的振动模式进行了理论分析^[111]。结果表明,拉曼光谱在研究分子内相互作用时具有自身优势,而 THz 光谱则能够对分子间的相互作用进行识别,将 THz 光谱与拉曼光谱相结合能够在对不同共晶形式结构和氢键效应进行分析时获得更全面的信息。2022 年,天津大学 Ge 等人通过 THz 光谱与低波数拉曼光谱联用,对常见神经药物卡马西平的两种共晶在 0.3~2.5 THz、0~100 cm^{-1} 范围内的低频振动特性进行了实验表征,并基于密度泛函理论对特征峰的振动模式进行了理论计算,结果表明,通过 THz 与拉曼光谱联用,能够获得更丰富的振动特性^[112]。2024 年,该课题组基于 THz 光谱与低波数拉曼光谱技术对胶质瘤的分子标记物 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric, GABA)进行分析。结果表明, GABA 在 0.6~2.1 THz 频率范围存在 3 个 THz 特征峰,在 0~150 cm^{-1} 波长范围存在 7 个拉曼特征峰^[113]。并且这些特征峰所反映的振动

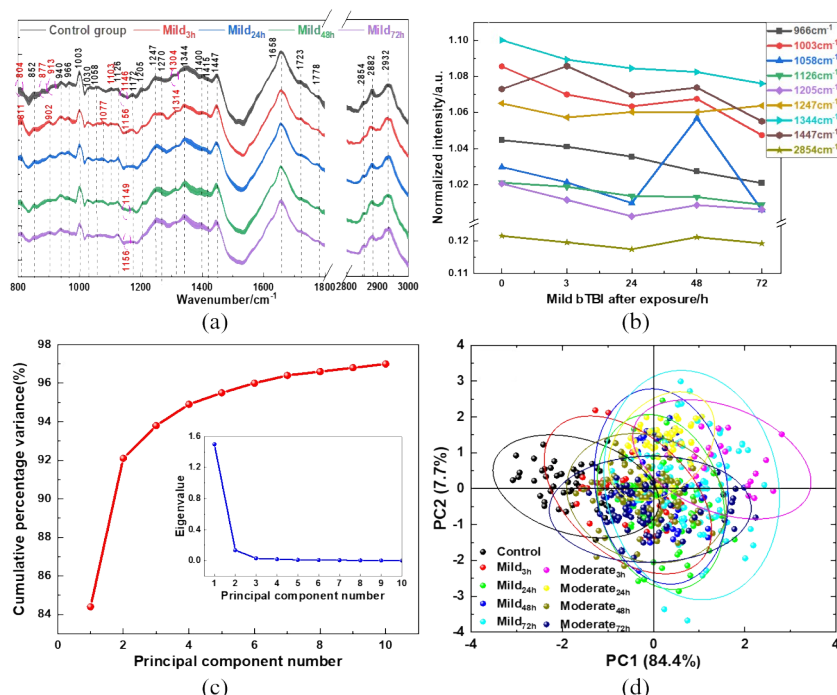


图 18 (a)轻度 bTBI 后不同时间点大鼠血清的拉曼光谱, (b)轻度 bTBI 后大鼠血清的拉曼强度随时间变化情况, (c)前 10 个 PC 方差的累计百分比, (d)血清样本在前两个 PC 的得分

Fig. 18 (a) The Raman spectra of serum after mild bTBI, (b) the Raman intensities change of mild bTBI at different time points, the analysis results of PCA. (c) cumulative percentage of the variance of the first 10 PCs, (d) scores of serum samples on the first two PCs

模式并不重合,该现象进一步表明 THz 波与拉曼光谱技术联用能够更加全面的表征分子信息,有望进一步应用于生物组织、细胞、体液等物质的分子特征提取与识别中,从而获取更丰富的样品信息。

4 结束语

由于 THz 波和拉曼光谱技术在技术上的互补性,使其在生物医学领域具有长足的发展前景。本文总结了 THz 波和拉曼光谱技术在脑创伤的检测中的相关应用研究,首先讨论了 THz 成像技术与三维重构技术相结合,实现生物组织 THz 波三维成像的相关研究;并介绍了 THz 波谱和成像技术与机器学习相结合,实现对不同创伤程度脑组织的自动分类与识别的相关研究;最后,探讨了拉曼光谱技术对不同程度、不同时间脑创伤组织、体液、生物标志物的拉曼特性检测的相关研究。基于目前的研究现状,着眼于 THz 波与拉曼光谱技术在当前脑创伤检测中的实际应用需求,从以下几个方面有望进行技术突破:

(1)脑创伤生物标志物检测是早期脑创伤诊断的有效方法,但目前研究中大多数标志物在其他疾

病发生时,其含量也会发生改变,因此,寻找脑创伤的特异性标志物,为脑创伤提供诊断和治疗靶点,从而有效提高脑创伤患者的生存率和预后水平;

(2)进一步研究生物标志物的太赫兹-拉曼光谱特性,及其在脑创伤体液、组织中的特异性表达机理,进而为脑创伤临床检测提供物理标志;

(3)目前的研究中大多为 THz 波与拉曼光谱分别在脑创伤检测中应用研究,在未来的研究中,通过将 THz 波与拉曼光谱技术联用,有望在脑创伤快速定性检测的同时实现创伤区域的精准识别;

(4)由于脑创伤生物样本的在体环境较为复杂,在进行在体 THz 与拉曼检测时往往对光谱信噪比或成像扫描方式具有更高的要求,因此开发快速且高效的采集方法、数据处理、分类方法及回归算法,有望实现术中病灶组织的快速识别,有效提高诊疗效率。除此之外,将人工智能和深度学习方法与 THz-拉曼联用技术相结合,在脑创伤定位、辅助诊断等方面也具有巨大的潜力,有望进一步推进 THz-拉曼联用技术在临床检测中的应用。

综上,THz 波和拉曼光谱技术弥补了传统检测方式的缺陷,具有无损、无标记、快速等优点,实现

了灵敏、快速的脑创伤检测,为脑创伤的诊断提供了一种新型的技术思路,通过与机器学习等其他技术相结合,有望成为当前影像学和病理学技术手段的重要补充,进一步应用于更多疾病的检测研究中。

References

- [1] Depalma R G, Buurris D G, Champion H R, et al. Current concepts: Blast injuries[J]. *New England Journal of Medicine*, 2005, 352(13): 1335-1342.
- [2] Peeters W, Van Den Brande R, Polinder S, et al. Epidemiology of traumatic brain injury in europe[J]. *Acta Neurochirurgica*, 2015, 157(10): 1683-1696.
- [3] Wu H M, Huang S C, Vespa P. et al. Redefining the pericontusional penumbra following traumatic brain injury: evidence of deteriorating metabolic derangements based on positron emission tomography[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2013, 30(5): 352-360.
- [4] Mac D C L, Johnson A M, Cooper D, et al. Detection of blast-related traumatic brain injury in U.S. military personnel[J]. *The New England journal of medicine*, 2011, 364(22): 2091-20100.
- [5] Yu S, Hayashi T, Kaneko Y, et al. Severity of controlled cortical impact traumatic brain injury in rats and mice dictates degree of behavioral deficits[J]. *Cell Transplantation*, 2009, 18(2): 241-242.
- [6] Weiss N, Galanaud D, Carpentier A, et al. Clinical review: Prognostic value of magnetic resonance imaging in acute brain injury and coma [J]. *Critical Care*, 2007, 11(5).
- [7] Nam P, Akonasu H, Shishkin R, et al. Plasma soluble prion protein, a potential biomarker for sport-related concussions: A pilot study[J]. *PloS One*, 2015, 10(2).
- [8] Gao X, Boryczka J, Zheng P, et al. A "hot spot"-enhanced paper lateral flow assay for ultrasensitive detection of traumatic brain injury biomarker S-100 β in blood plasma[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2021, 177: 112967.
- [9] Weppner J, Linsenmeyer M, Ide W. Military blast-related traumatic brain injury [J]. *Current Physical Medicine and Rehabilitation Reports*, 2019, 7(4): 323-332.
- [10] Shenton M E, Hamoda H M, Schneiderman J S, et al. A review of magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging findings in mild traumatic brain injury[J]. *Brain Imaging & Behavior*, 2012, 6(2): 137-192.
- [11] Wunder A, Schoknecht K, Stanimirovic D B, et al. Imaging blood-brain barrier dysfunction in animal disease models[J]. *Epilepsia*, 2012, 53(s6): 14-21.
- [12] Badea A, Kamnaksh A, Anderson R J, et al. Repeated mild blast exposure in young adult rats results in dynamic and persistent microstructural changes in the brain [J]. *Neuroimage-Clinical*, 2018, 18: 60-73.
- [13] Wang K K, Yang Z H, Zhu T, et al. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury [J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2018, 18(2): 165-180.
- [14] Rosenfeld J V, Mcfarlane A C, Bragge P, et al. Blast-related traumatic brain injury[J]. *Lancet Neurology*, 2013, 12(9): 882-893.
- [15] Gyorgy A, Ling G, Wingo D, et al. Time-dependent changes in serum biomarker levels after blast traumatic brain injury[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2011, 28(6): 1121-1126.
- [16] Cecil S J, Rakesh P, Victor A N, et al. Imaging of ex vivo nonmelanoma skin cancers in the optical and terahertz spectral regions optical and terahertz skin cancers imaging [J]. *Journal of Biophotonics*, 2014, 7(5): 295-303.
- [17] Wu L M, Liao B, Xu D G, et al. Study of in-vivo breast cancer in a subcutaneous xenograft mouse model using terahertz imaging [J]. *Journal of Infrared and Millimeter Waves*, 2020, 39(05): 553-560.
武丽敏, 廖彬, 徐德刚, 等. 小鼠在体皮下乳腺癌的太赫兹波成像检测研究[J]. *红外与毫米波学报*, 2020, 39(05): 553-560.
- [18] Wu L M, Xu D G, Wang Y Y, et al. Study of in vivo brain glioma in a mouse model using continuous-wave terahertz reflection imaging [J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(8): 3953-3962.
- [19] Krafft C, Sobottka S B, Schackert G, et al. Near infrared Raman spectroscopic mapping of native brain tissue and intracranial tumors [J]. *The Analyst*, 2005, 130(7): 1070-1077.
- [20] Kohler M, Machill S, Salzer R, et al. Characterization of lipid extracts from brain tissue and tumors using Raman spectroscopy and mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 393(5): 1513-1520.
- [21] Bergner N, Krafft C, Deiger K G, et al. Unsupervised unmixing of Raman microspectroscopic images for morphochemical analysis of non-dried brain tumor specimens[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403(3): 719-725.
- [22] Krafft C, Belay B, Bergner N, et al. Advances in optical biopsy-correlation of malignancy and cell density of primary brain tumors using Raman microspectroscopic imaging [J]. *Analyst*, 2012, 137(23): 5533-5537.
- [23] Hu B B, Nuss M C. Imaging with terahertz waves[J]. *Optics letters*, 1995, 20(16): 1716-1719.
- [24] Wu L M, Xu D G, Wang Y Y, et al. Study of in vivo brain glioma in a mouse model using continuous-wave terahertz reflection imaging [J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(8): 3953-3962.
- [25] Gerasimov V V, Knyazev B A, Cherkassky V S. Obtaining spectrally selective images of objects in attenuated total reflection regime in real time in visible and terahertz ranges [J]. *Optics and Spectroscopy*, 2010, 108(6): 859-865.
- [26] Liu H X, Wang Y Y, Xu D G, et al. High-sensitivity attenuated total internal reflection continuous-wave terahertz imaging[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2017, 50(37): 375103.
- [27] Watson D W, Jenkins S D, Ruostekoski J, et al. Toroidal dipole excitations in metamolecules formed by interacting plasmonic nanorods [J]. *Physical Review B*, 2016, 93(12): 125420.
- [28] Dean P, Mitrofanov O, Keeley J, et al. Apertureless near-field terahertz imaging using the self-mixing effect in a quantum cascade laser [J]. *Applied Physics Letters*,

- 2016, 108(9): 091113.
- [29] Klarskov P, Kim H, Colvin V L, et al. Nanoscale laser terahertz emission microscopy[J]. *ACS Photonics*, 2017, 4(11): 2676–2680.
- [30] Chen S C, Du L H, Meng K, et al. Terahertz wave near-field compressive imaging with a spatial resolution of over $\lambda/100$ [J]. *Optics Letters*, 2018, 44(1): 21–24.
- [31] Fan S Z, Qi F, Notake T, et al. Real-time terahertz wave imaging by nonlinear optical frequency up-conversion in a 4-dimethylamino-N'-methyl-4'-stilbazolium tosylate crystal[J]. *Applied Physics Letters*, 2014, 104(10): 101106.
- [32] Oh S J, Kang J, Maeng I, et al. Nanoparticle-enabled terahertz imaging for cancer diagnosis[J]. *Optics Express*, 2009, 17(5): 3469–3475.
- [33] Oh S J, Kim S H, Jeong K, et al. Measurement depth enhancement in terahertz imaging of biological tissues[J]. *Optics Express*, 2013, 21(18): 21299–21305.
- [34] Zhao H L, Wang Y Y, Chen L Y, et al. High-sensitivity terahertz imaging of traumatic brain injury in a rat model[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2018, 23(3): 036015.
- [35] Wang Y Y, Chen L Y, Xu D G, et al. Three-dimensional reconstruction of rat brain trauma based on terahertz imaging[J]. *Acta Optica Sinica*, 2019, 39(3): 0317002.
王与烨, 陈霖宇, 徐德刚, 等. 基于太赫兹波成像的鼠脑创伤三维重构[J]. *光学学报*, 2019, 39(3): 0317002.
- [36] Shi J, Wang Y Y, Chen T N, et al. Automatic evaluation of traumatic brain injury based on terahertz imaging with machine learning[J]. *Optics Express*, 2018, 26(5): 6371–6381.
- [37] Wang Y Y, Li H B, Wang Z L, et al. Terahertz wave imaging detection of blast-induced traumatic brain injury of rat[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(10): 1017001.
王与烨, 李海滨, 王泽龙, 等. 大鼠冲击性脑创伤的太赫兹波成像检测[J]. *光学学报*, 2022, 42(10): 1017001.
- [38] Bing P B, Yao J Q, Xu D G, et al. High-quality continuous-wave imaging with a 2.53 THz optical pumped terahertz laser and a pyroelectric detector[J]. *Chinese Physics Letters*, 2010, 27(12): 209–213.
- [39] Fan S T, Ung B S Y, Parrot E P J, et al. In vivo terahertz reflection imaging of human scars during and after the healing process[J]. *Journal of Biophotonics*, 2017, 10(9): 1143–1151.
- [40] Wang Y Y, Jiang Z N, Xu D G, et al. Study of the dielectric characteristics of living glial-like cells using terahertz ATR spectroscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(10): 5351–5361.
- [41] Wang W N, Li H Q, Zhang Y, et al. Correlations between terahertz spectra and molecular structures of 20 standard α -amino acids[J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2009, 25(10): 2074–2079.
王卫宁, 李洪起, 张岩, 等. 20种 α -氨基酸的太赫兹光谱及其分子结构的相关性[J]. *物理化学学报*, 2009, 25(10): 2074–2079.
- [42] Zhu Z, Zhang J B, Song Y S, et al. Broadband terahertz signatures and vibrations of dopamine[J]. *Analyst*, 2020, 145(18): 6006–6013.
- [43] Arora A, Luong T Q, Krüger M, et al. Terahertz-time domain spectroscopy for the detection of PCR amplified DNA in aqueous solution[J]. *Analyst*, 2012, 137(3): 575–579.
- [44] Yamaguchi S, Fukushi Y, Kubota O, et al. Brain tumor imaging of rat fresh tissue using terahertz spectroscopy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30124.
- [45] Zhang Z Y, Yang G, Fan F, et al. Terahertz circular dichroism sensing of living cancer cells based on microstructure sensor[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1180: 338871.
- [46] Zhang Z Y, Zhang T R, Fan F, et al. Terahertz polarization sensing of bovine serum albumin proteolysis on curved flexible metasurface[J]. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2022, 338: 113499.
- [47] Wang Y Y, Jiang Z N, Xu D G, et al. Study of dielectric characteristics of living glial-like cells using terahertz ATR spectroscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(10): 5351–5361.
- [48] Fu Y, Chen T N, Chen L G, et al. Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy integrated with a microfluidic chip[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1143443.
- [49] Tang M J, Zhang M K, Fu Y, et al. Terahertz label-free detection of nicotine-induced neural cell changes and the underlying mechanisms[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2023, 241: 115697.
- [50] Tang M J, Zhang M K, Xia L P, et al. Detection of gene mutation responsible for Huntington's disease by terahertz attenuated total reflection microfluidic spectroscopy[J]. *Journal of Biophotonics*, 2021, 14(1): e202000315.
- [51] Wang Y Y, Wang G Q, Xu D G, et al. Terahertz spectroscopic diagnosis of early blast-induced traumatic brain injury in rat[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(8): 4085–4098.
- [52] Raman C V, Krishnan K S. A new type of secondary radiation[J]. *Nature*, 1928, 121(3048): 501–502.
- [53] Yoo W S, Kim J H, Han S M. Multiwavelength Raman characterization of silicon stress near through-silicon vias and its inline monitoring applications[J]. *Journal of Micro/Nanolithography Mems & Moems*, 2014, 13(1): 011205.
- [54] Sekar S K V, Mosca S, Farina A, et al. Frequency offset Raman spectroscopy (FORS) for depth probing of diffusive media[J]. *Optics Express*, 2017, 25(5): 4585–4597.
- [55] Lan Y, Zondode M, Deng H, et al. Basic concepts and recent advances of crystallographic orientation determination of graphene by Raman spectroscopy[J]. *Crystals*, 2018, 8(10): 375.
- [56] Rzhetskii A. The recent advances in Raman microscopy and imaging techniques for biosensors[J]. *Biosensors-Basel*, 2019, 9(1): 25.
- [57] Ferrari A C, Meyer J C, Scardaci V, et al. Raman spectrum of graphene and graphene layers[J]. *Physical Review Letters*, 2006, 97(18): 187401.
- [58] Puppels G J, de Mul F F M, Otto C, et al. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microscopy[J]. *Nature*, 1990, 347(6290): 301–303.
- [59] Cui S, Zhang S, Yue S. Raman spectroscopy and imaging

- for cancer diagnosis[J]. *Journal of Healthcare Engineering*, 2018, 2018: 8619342.
- [60] Rauwel E, Al-Arag S, Salehi H, et al. Assessing cobalt metal nanoparticles uptake by cancer cells using live Raman spectroscopy[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2020, 15: 7051–7062.
- [61] Socci J, Salzillo T, Della Valle R G, et al. Fast identification of rubrene polymorphs by lattice phonon Raman microscopy[J]. *Solid State Sciences*, 2017, 71: 146–151.
- [62] Jeong H, Bang S, Oh H M, et al. Semiconductor-insulator-semiconductor diode consisting of monolayer MoS₂, h-BN, and GaN heterostructure [J]. *Acs Nano*, 2015, 9 (10): 10032–10038.
- [63] Pomazi A, Toldy A. Particle distribution of solid flame retardants in infusion moulded composites [J]. *Polymers*, 2017, 9(7): 250.
- [64] Robert B. Resonance Raman spectroscopy [J]. *Photosynthesis Research*, 2009, 101(2): 147–155.
- [65] Howard W F, Nelson W H, Sperry J F. A resonance Raman method for the rapid detection and identification of bacteria in water [J]. *Applied Spectroscopy*, 2016, 34 (1): 72–75.
- [66] Kipczak Ł., Karmakar A, Grzeszczyk M, et al. Resonant Raman scattering of few layers CrBr₃ [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 7484.
- [67] Gontijo R N, Bunker N, Graiser S L, et al. Resonant Raman scattering study of strain and defects in chemical vapor deposition grown MoS₂ monolayers [J]. *Small*, 2024, 2310685.
- [68] Wang N, Yang A Q, Tian X, et al. Label-free analysis of the β-hydroxybutyric acid drug on mitochondrial redox states repairment in type 2 diabetic mice by resonance Raman scattering [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2024, 172: 116320.
- [69] Fleischmann M P, Hendra P J, McQuillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode [J]. *Chemical Physics Letters*, 1974, 26(2): 163–166.
- [70] Ding S Y, Yi J, Li J F, et al. Nanostructure-based plasmon-enhanced Raman spectroscopy for surface analysis of materials [J]. *Nature Reviews Materials*, 2016, 1 (6): 16021.
- [71] Ilkhani H, Hughes T, Li J, et al. Nanostructured SERS-electrochemical biosensors for testing of anticancer drug interactions with DNA [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 80: 257–264.
- [72] Feliu N, Hassan M, Garcia R E, et al. SERS quantification and characterization of proteins and other biomolecules [J]. *Langmuir*, 2017, 33(38): 9711–9730.
- [73] Bruzas I, Lum W, Gorunmez Z, et al. Advances in surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) substrates for lipid and protein characterization: sensing and beyond [J]. *Analyst*, 2018, 143(17): 3990–4008.
- [74] Kneipp J, Kneipp H, Wittig B, et al. Following the Dynamics of pH in endosomes of live cells with SERS nanosensors [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114(16): 7421–7426.
- [75] El-Said W A, Yoon J, Choi J W. Nanostructured surfaces for analysis of anticancer drug and cell diagnosis based on electrochemical and SERS tools [J]. *Nano Convergence*, 2018, 5(1): 11.
- [76] Blanco-Formoso M, Alvarez-Puebla R A. Cancer diagnosis through SERS and other related techniques [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 2253.
- [77] Dey P, Vaideanu A, Mosca S, et al. Surface enhanced deep Raman detection of cancer tumor through 71 mm of heterogeneous tissue [J]. *Nanotheranostics*, 2022, 6(3): 337–349.
- [78] Zong C, Xu M X, Xu L J, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges [J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(10): 4946–4980.
- [79] Evans C L, Potma E O, Puoris'haag M, et al. Chemical imaging of tissue in vivo with video-rate coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(46): 16807–16812.
- [80] Saar B G, Freudiger C W, Reichman J, et al. Video-rate molecular imaging in vivo with stimulated Raman scattering [J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1368–1370.
- [81] Potma E O, de Boeij W P, van Haastert P J M, et al. Real-time visualization of intracellular hydrodynamics in single living cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (4): 1577–1582.
- [82] Steuwe C, Patel I I, Ul-Hasan M, et al. CARS based label-free assay for assessment of drugs by monitoring lipid droplets in tumor cells [J]. *Journal of Biophotonics*, 2014, 7(11–12): 906–913.
- [83] Wang H W, Langohr I M, Sturek M, et al. Imaging and quantitative analysis of atherosclerotic lesions by CARS-based multimodal nonlinear optical microscopy [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2009, 29 (9): 1342–1348.
- [84] Kiss N, Krolopp A, Lorincz K, et al. Stain-free histopathology of basal cell carcinoma by dual vibration resonance frequency CARS microscopy [J]. *Pathology & Oncology Research*, 2018, 24(4): 927–930.
- [85] Wei L, Yu Y, Shen Y H, et al. Vibrational imaging of newly synthesized proteins in live cells by stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(28): 11226–11231.
- [86] Fu D, Lu F K, Zhang X, et al. Quantitative chemical imaging with multiplex stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(8): 3623–3626.
- [87] Reinecke D, von Spreckelsen N, Mawrin C, et al. Novel rapid intraoperative qualitative tumor detection by a residual convolutional neural network using label-free stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Acta Neuropathologica Communications*, 2022, 10(1): 109.
- [88] Orringer D A, Pandian B, Niknafs Y S, et al. Rapid intraoperative histology of unprocessed surgical specimens via fibre-laser-based stimulated Raman scattering microscopy [J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1: 0027.
- [89] Hollon T C, Pandian B, Adapa A R, et al. Near real-time intraoperative brain tumor diagnosis using stimulated Raman histology and deep neural networks [J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(1): 52–58.

- [90] Liu Z J, Chen L C, Cheng H X, et al. Virtual formalin-fixed and paraffin-embedded staining of fresh brain tissue via stimulated Raman CycleGAN model[J]. *Science Advances*, 2024, 10(13): eadn3426.
- [91] Tay L L, Tremblay R G, Hulse J, et al. Detection of acute brain injury by Raman spectral signature[J]. *Analyst*, 2011, 136(8): 1620–1626.
- [92] Surmacki J M, Bollepalli A L, Pischitta F, et al. Label-free monitoring of tissue biochemistry following traumatic brain injury using Raman spectroscopy[J]. *Analyst*, 2016, 142(1): 132–139.
- [93] Ge M L, Wang Y Y, Wu T, et al. Raman spectroscopic diagnosis of blast-induced traumatic brain injury in rats combined with machine learning[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2024, 304: 123419.
- [94] Khalek D, Donche S, Braeckman K, et al. Added value of microscale Raman chemical analysis in mild traumatic brain injury (TBI): a comparison with macroscale MRI[J]. *ACS Omega*, 2018, 3(12): 16806–16811.
- [95] Kawon K, Setkowicz Z, Drozd A, et al. The methods of vibrational microspectroscopy reveals long-term biochemical anomalies within the region of mechanical injury within the rat brain[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 263: 120214.
- [96] Banbury C, Styles I, Eisenstein N, et al. Spectroscopic detection of traumatic brain injury severity and biochemistry from the retina[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(11): 6249–6261.
- [97] Mowbray M, Banbury C, Rickard J J S, et al. Development and characterization of a probe device toward intracranial spectroscopy of traumatic brain injury[J]. *Acs Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7(3): 1252–1262.
- [98] Thelin E P, Nelson D W, Bellander B M. A review of the clinical utility of serum S100B protein levels in the assessment of traumatic brain injury[J]. *Acta Neurochirurgica*, 2017, 159(2): 209–225.
- [99] Bogoslovsky T, Wilson D, Chen Y, et al. Increases of plasma levels of glial fibrillary acidic protein, tau, and amyloid beta up to 90 days after traumatic Brain injury[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2017, 34(1): 66–73.
- [100] Naeimi Z S, Weinhofer A, Sarahrudi K, et al. Predictive value of S-100B protein and neuron specific-enolase as markers of traumatic brain damage in clinical use[J]. *Brain Injury*, 2006, 20(5): 463–468.
- [101] Berger R P, Adelson P D, Pierce M C, et al. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children[J]. *Journal of Neurosurgery*, 2005, 103(1): 61–68.
- [102] Brophy G M, Mondello S, Papa L, et al. Biokinetic analysis of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1) in severe traumatic brain injury patient biofluids[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2011, 28(6): 861–70.
- [103] Papa L, Akinyi L, Liu M C, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury[J]. *Critical Care Medicine*, 2010, 38(1): 138–144.
- [104] Wang Y, Wei Y, Oguntayo S, et al. Cerebrospinal fluid chemokine (C-C Motif) ligand 2 is an early-Response biomarker for blast-overpressure-wave-induced neurotrauma in rats[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2017, 34(4): 952–962.
- [105] Zhang J, Knight R, Wang Y, et al. Hair follicle miRNAs: a novel biomarker for primary blast induced-mild traumatic brain injury[J]. *Biomarkers*, 2019, 24(2): 166–179.
- [106] Sosa M A G, De Gasperi R, Garcia G S P, et al. Low-level blast exposure disrupts gliovascular and neurovascular connections and induces a chronic vascular pathology in rat brain[J]. *Acta Neuropathologica Communications*, 2019, 7: 6.
- [107] Arun P, Rossetti F, Eken O, et al. Phosphorylated neurofilament heavy chain in the cerebrospinal fluid is a suitable biomarker of acute and chronic blast-induced traumatic brain injury[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2021, 38(20): 2801–2810.
- [108] Arun P, Wilder D M, Morris A J, et al. Cerebrospinal fluid levels of lysophosphatidic acids can provide suitable biomarkers of blast-induced traumatic brain injury[J]. *Journal of Neurotrauma*, 2023, 40(21–22): 2289–2296.
- [109] Ge M L, Wang Y Y, Wu T, et al. Serum-based Raman spectroscopic diagnosis of blast-induced brain injury in a rat model[J]. *Biomedical Optics Express*, 2023, 14(7): 3622–3634.
- [110] Harris G, Stickland C A, Lim M, et al. Raman spectroscopy spectral fingerprints of biomarkers of traumatic brain injury[J]. *Cells*, 2023, 12(22): 2589.
- [111] Cai Q, Xue J D, Wang Q Q, et al. Solid-state cocrystal formation between acyclovir and fumaric acid: Terahertz and Raman vibrational spectroscopic studies[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 186: 29–36.
- [112] Ge M L, Wang Y Y, Zhu J F, et al. Low-frequency vibrational spectroscopy characteristic of pharmaceutical carbamazepine co-crystals with nicotinamide and saccharin[J]. *Sensors*, 2022, 22(11): 4053.
- [113] Ge M L, Wang Y Y, Zhang F, et al. Study of low-frequency spectroscopic characteristics of γ -aminobutyric acid with THz and low-wavenumber Raman spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2024, 305: 123550.