

ORIGINAL

Narcolepsia y olor: resultados preliminares

L. Dominguez-Ortega^{a,*}, E. Díaz-Gállego^b, F. Pozo^c, S. Cabrera García-Armenter^d,
M. Serrano Comino^d y E. Dominguez-Sanchez^d, con la colaboración de la Guardia Civil

^a U.M.F. y Unidad de Sueño Clínica Ruber de Madrid, Instituto para la Investigación de los Trastornos del Sueño (IITS), Madrid, España

^b U.M.F. y Unidad de Sueño Clínica Ruber de Madrid, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

^c Hospital 12 de Octubre, Madrid, España

^d U.M.F. y Unidad de Sueño Clínica Ruber, Madrid, España

Recibido el 7 de junio de 2013; aceptado el 11 de junio de 2013

Disponible en Internet el 6 de julio de 2013

PALABRAS CLAVE

Narcolepsia;
Hipersomnia;
Adiestramiento
canino;
Narices electrónicas;
Compuestos
orgánicos volátiles;
Polisomnografía;
Detección olfativa
canina;
Distrofia miotónica
tipo I

Resumen

Objetivo: El propósito de este estudio es probar la hipótesis de un olor corporal característico en narcolépticos como indicador de diagnóstico.

Métodos: Se testan muestras de sudor de 12 narcolépticos y 22 controles sanos de forma independiente por 2 perros entrenados. Su detección, positiva o negativa, se compara con el diagnóstico *gold standard* de narcolepsia. Ni adiestrador ni perros conocían el tipo de muestra seleccionada o su emplazamiento en el dispositivo de búsqueda.

Doce pacientes con narcolepsia, de ambos sexos y distintas edades, reclutados entre abril de 2011 y junio de 2012 y diagnosticados según criterios estándar mediante su historia clínica y la polisomnografía nocturna seguida de test de latencia múltiple del sueño, conforman el grupo de pacientes. El grupo control está formado por 22 voluntarios sanos, de ambos sexos y distintas edades, sin trastorno del sueño.

Las muestras de sudor, tanto de pacientes como de controles, se recogieron siguiendo el mismo protocolo para evitar contaminación y fueron testadas de forma independiente por 2 perros entrenados.

Resultados: Once narcolépticos son detectados positivamente por los perros frente a solo 3 controles sanos.

Conclusión: Parece que los pacientes con narcolepsia tienen un olor corporal típico que los perros entrenados pueden detectar. El desarrollo de un test de olfato para el diagnóstico de narcolepsia abre nuevas áreas de investigación.

© 2013 Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria (SEMERGEN). Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Véase contenido relacionado en DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semerg.2013.06.002>

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: luis.dominguez@clinicaludor.com, luis.dominguez@ruber.es (L. Dominguez-Ortega).

KEYWORDS

Narcolepsy;
 Hypersomnia;
 Dogs training;
 Electronic nose;
 Volatile organic
 compounds;
 Polysomnography;
 Canine scent
 detection;
 Myotonic dystrophy
 type 1

Narcolepsy and odour: Preliminary report**Abstract**

Objectives: This study has been carried out to test the clinical hypothesis of personal smell as a hint to the diagnosis of narcoleptic patients.

Methods: Sweat samples from narcoleptic and healthy controls were tested independently by two trained dogs and their positive or negative detection compared to the gold standard diagnosis for narcolepsy. Neither trainer nor dog knew the source of the sample selected or its placement in the search device.

Twelve narcoleptic patient, both sexes and various ages, recruited from April 2011 to June 2012 and diagnosed according to standard criteria, through their clinical records and nocturnal polysomnography plus multiple sleep latency test, made up the patient group. The control group was made up of 22 healthy volunteer without sleep disorders, both sexes and various ages.

Sweat samples from both patients and controls were collected following the same protocol to avoid contamination, and tested independently for two trained dogs.

Results: Eleven narcoleptic were detected positive by the dogs while only three controls.

Conclusion: It seems that narcoleptic patients have a distinct typical odour that trained dogs can detect. The development of olfactory test could be a useful method in the screening of narcolepsy while opens a new research area.

© 2013 Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria (SEMERGEN). Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La narcolepsia es un trastorno primario del sueño que se caracteriza por excesiva somnolencia diurna, ataques de sueño, cataplejía y parálisis de sueño con alucinaciones hipnagógicas. El sueño REM y las variables de continuidad del sueño también están alterados en los pacientes narcolépticos¹. Se desconoce la etiología de la narcolepsia en humanos, aunque se da gran importancia al papel del sistema orexina/hipocretina, tanto en humanos como en animales^{2,3}. La prevalencia de la narcolepsia es de 1/2.000⁴ y el diagnóstico se basa en los datos clínicos y los estudios polisomnográficos. Hay diferentes comunicaciones de síntomas de narcolepsia debidos a lesiones orgánicas por tumores de cerebro medio, gliomas pontinos y gliosis hipotalámica^{5,6}, y también asociadas al síndrome de Down⁷.

Distintos miembros de nuestro equipo apreciaron que los pacientes narcolépticos tenían un olor diferente, característico. El uso de los aromas como indicadores de enfermedad se remonta a la medicina tradicional^{8,9}, valorándolo en diferentes secreciones orgánicas, el aliento y el sudor. En 1837 se identificó la producción de benzaldehído por microorganismos¹⁰; en 1876, el olor de la heridas infectadas con cultivos de laboratorio de ántrax¹¹; en 1923 se demostraron olores asociados a cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium tuberculosis*¹². El uso del olfato como medio diagnóstico a la cabecera del paciente se ha utilizado durante muchos años en patologías como el fallo hepático, uremia, cetonemia, enfermedades metabólicas en niños, tifus, acromegalia, ingestión de productos químicos, esquizofrenia y fenilcetonuria^{13,14}.

El olfato es el principal sentido que permite a la mayoría de organismos detectar predadores, comida, pareja y, de ese modo, perpetuar la especie. A través del olor la mayoría de los organismos son capaces de crear una representación interna del mundo externo mediante mecanismos de reconocimiento de la información sensorial del entorno¹⁵. El input

del sentido del olfato está muy bien definido por compuestos químicos con una estructura molecular precisa¹⁶. En el olor hay un conjunto complejo de productos químicos volátiles procedentes de la orina, el aliento, la sangre, las secreciones vaginales y el sudor^{16,17}. Los perros se pueden entrenar para detectar cualquier sustancia olorosa, incluso en presencia de otros olores que interfieran¹⁸. Pueden detectar cantidades muy pequeñas de sustancias con muy diferentes formas y tamaños moleculares¹⁸ y moléculas con muy pequeñas diferencias estereoisoméricas^{19,20}. La capacidad olfatoria del perro es la mayor de los mamíferos y puede ser un millón de veces superior a la de los humanos.

Actualmente hay un empleo cada vez mayor de perros entrenados para la detección, el reconocimiento y la localización de olores. Distintos factores ambientales, conductuales y genéticos influyen en la capacidad de los perros¹⁸, y las opiniones del entrenador son fundamentales para una buena detección del olor²¹. Se han llevado a cabo numerosos estudios clínicos basados en la detección olfativa en tumores e infecciones, con un nivel de sensibilidad y especificidad cercano al 100% en melanomas²², en el cáncer de pulmón y de mama²³, en cáncer de ovario²⁴, en el cribado de cáncer de colon²⁵ y en otros tumores²⁶.

Gracias a la capacidad de perros entrenados para detectar diferentes olores y con la sospecha clínica de que los pacientes con narcolepsia tienen un olor diferente, se propone este estudio para testar la hipótesis clínica del olor corporal como indicador de diagnóstico en la narcolepsia.

Métodos

Siguiendo los criterios de la *American Academy of Sleep Medicine*²⁷, los pacientes con narcolepsia fueron diagnosticados mediante la historia clínica y el registro polisomnográfico nocturno seguido de test de latencia múltiple del sueño (TLMS). El grupo control estaba formado por

individuos sanos de ambos sexos y diferentes grupos de edad, que completaron un cuestionario que permitía excluir cualquier sospecha de narcolepsia o de otra patología asociada al sueño. Los pacientes fueron inscritos en el estudio desde abril del 2011 hasta junio del 2012. Todos los pacientes y controles firmaron un consentimiento informado.

Muestras de sudor

Las muestras fueron recogidas, tanto en pacientes como en controles, conforme al siguiente protocolo: lavar manos y brazos durante 30 s con jabón no perfumado (agua, glicerina vegetal, coco, jabón de jarabe de maíz, alcohol, ácido cítrico, vitamina E vegetal, nada más); aclarar manos y brazos con agua durante 2 min; secar las manos al aire durante 2 min; frotar las palmas de las manos sobre los brazos durante 5 min; poner la gasa entre las palmas de las manos durante 10 min mientras se camina, y frotar manos, brazos y antebrazos; introducir la gasa en el envase y taparlo con el septum; identificar la muestra (sexo, edad, fecha de la toma) y mantener la muestra refrigerada a 5°C hasta su remisión para realizar el test (siempre en el curso de las 24 h posteriores a la del momento de su obtención).

Para evitar contaminaciones, solo el paciente o control tuvieron contacto con el material empleado para el muestreo (envase, septum, pinzas y gasa). Antes de proceder al muestreo los candidatos tenían que evitar el uso de perfumes, fragancias, desodorantes, tabaco, así como cualquier fuente de contaminación externa. Las gasas eran de algodón estéril para uso quirúrgico.

Perros y adiestramiento

Para la detección se eligieron 2 perros: un macho de nombre *Kuns* y la hembra *Coca*, de raza labrador retriever de 4 años de edad, en vez de solo uno como se ha hecho en otros ensayos clínicos publicados, para aumentar la fiabilidad. Pensamos que el acuerdo entre perros podría aumentar el valor del test. Ambos perros pertenecen a la Guardia Civil, instituto armado de naturaleza militar cuya misión es proteger el libre ejercicio de los derechos y libertades, y garantizar la seguridad ciudadana²⁸. Su Servicio Cinológico (SECIR) fue creado en 1951 para el entrenamiento y la utilización de perros en la búsqueda de personas desaparecidas, intervención en desastres, localización de drogas o explosivos, rescate en la montaña, etc., y es el que ha llevado a cabo el entrenamiento y la realización de todos los test de detección de las muestras enviadas.

La perra *Coca* había sido entrenada para la detección de drogas (detección activa) y *Kuns* para detección de explosivos (detección pasiva). En la detección activa, al detectar el olor específico *Coca* se activa y mueve y utiliza manos y uñas esperando recibir la recompensa. En la detección pasiva, ante la muestra específica *Kuns* demuestra una inhibición en su activación y movimientos y adopta la posición de sentado y recibe la recompensa.

El método de adiestramiento para detectar el olor específico de un paciente con narcolepsia fue el siguiente: se crían labradores retriever de mediano tamaño con poderoso sentido del olfato y se socializan para adaptarse a los lugares de intervención. Se expone a los perros al olor de los

narcolépticos (los 2 primeros) utilizando gasas impregnadas en su sudor, hasta que los perros lo asocian con la recompensa y demuestran que discriminan ese olor frente a otras muestras de sustancias olorosas y de gasas impregnadas del sudor de controles sanos. Se entrenó a los perros para realizar la búsqueda y la identificación del olor, utilizándose búsqueda cerca del guía (con correa) o alejada del guía (sin correa). Para mejorar el procedimiento se diseñó un mueble asentado en un dispositivo de búsqueda vertical con 8 compartimentos, que permitía exponer las gasas impregnadas con el sudor de pacientes junto a otras de controles sanos y de otras sustancias a la identificación de los perros, en una línea de registro entre 2 puntos (inicio y final).

Se disponía una muestra positiva junto a otras 7 como controles, cada una en un compartimento diferente, cambiando continuamente los emplazamientos de la gasa problema y el de las sustancias que se utilizaron como control (gasa impregnada con el sudor de sujetos sanos y resto de sustancias), previa limpieza de los compartimentos con alcohol en cada determinación. Ni perro ni adiestrador conocían el emplazamiento de la muestra problema en el dispositivo de búsqueda.

Los perros trabajaron en una habitación de 6 × 9 m en la que se dispusieron 2 paneles contiguos de conglomerado y formica de 366 × 91 cm de largo y 2 cm de grosor, perpendiculares al suelo, asentados sobre patas de metal, con 4 agujeros de 7,5 cm de diámetro, una separación entre agujeros de 88 cm y una altura respecto del suelo de 57,5 cm. La distancia del último agujero al final del panel era de 44 cm, que sumada a la del otro panel mantiene la distancia de 88 cm con el resto de agujeros. En la parte posterior de los paneles se dispusieron 4 contenedores con tapa coincidiendo con los agujeros del otro lado. Se utilizaron tornillos de madera para sujetar los paneles de 30 cm de ancho × 20 cm de profundidad × 20 cm de alto. Como se ha comentado anteriormente, se utilizó detección activa y pasiva, y cada perro utilizó un método específico. El entrenamiento de los perros se realizó entre marzo y abril de 2011.

Ensayos

Los test se realizaron entre abril del 2011 y julio del 2012. En cada test se utilizaron muestras nuevas de pacientes y controles. Los perros pasaban ante los boxes para la detección una sola vez en cada test. Se realizaron como máximo 2 tests diarios con muestras diferentes. Se trataba de un estudio doble ciego (ni adiestrador ni perro conocían el tipo de muestra seleccionada ni su emplazamiento en el dispositivo de búsqueda), con doble test de los perros (cada muestra fue analizada de forma independiente por cada uno de los perros) y 2 actitudes diferentes de detección (activa y pasiva). Los perros siempre estuvieron bajo control veterinario, en perfecto estado de salud y sin lesiones.

Análisis estadístico

Se describe la distribución de las variables edad, género y hábito tabáquico entre pacientes y controles. Se realiza un análisis del grado de acuerdo entre observadores (perros) en la discriminación/detección de muestras procedentes de pacientes narcolépticos y de controles sanos mediante el

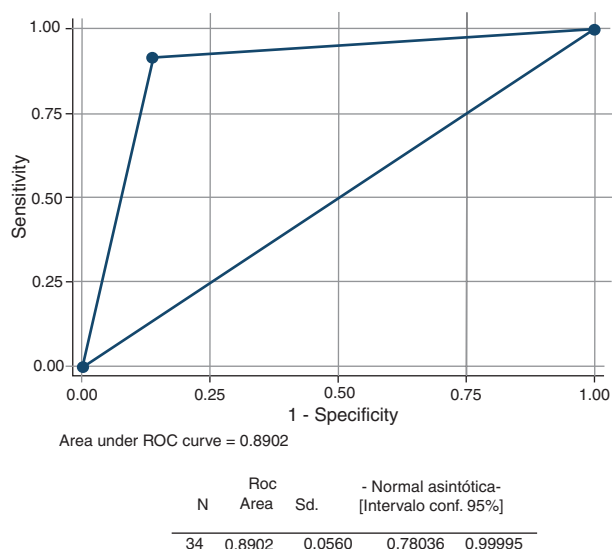


Figura 1 Área bajo la curva ROC para las detecciones del perro 1.

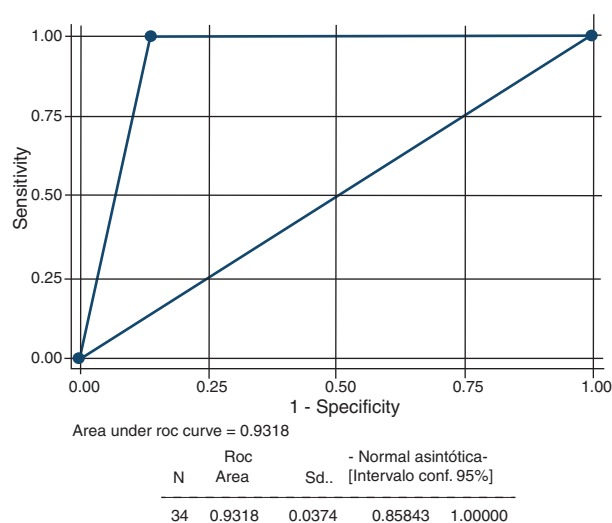


Figura 2 Área bajo la curva ROC para las detecciones del perro 2.

estadístico coeficiente Kappa (intervalo de confianza [IC] del 95%).

Puesto que ambas pruebas, problema (detección por los perros) y referencia (diagnóstico *gold standard*), tienen una distribución binaria, el análisis de las características operacionales de la prueba diagnóstica problema se realiza mediante una tabla de 2×2 . Se hacen estimaciones de la sensibilidad (Se), la especificidad (Esp) y los valores predictivos positivo y negativo (VPP+, VPN-), con sus IC del 95%. Se hará una valoración conjunta del comportamiento de Se y Esp mediante una curva ROC, cuya área bajo la curva representa la probabilidad de que al aplicar el test a 2 sujetos tomados al azar, uno paciente y otro control, los identifique apropiadamente (figs. 1 y 2).

Para controlar el efecto de la prevalencia de narcolepsia en la serie estudiada y generalizar los resultados de los estimadores diagnósticos a diferentes situaciones clínicas, se calcularán los cocientes de probabilidades (CP) como forma

alternativa de describir el resultado de un test diagnóstico. El CP- puede utilizarse para calcular la probabilidad del trastorno tras un test positivo o negativo. El CP+, cociente de probabilidad de un resultado positivo $[Se/(1 - Esp)]$, informa de cuanto más probable es que tal resultado provenga de un paciente con narcolepsia que de un control. El CP- $[(1 - Se)/Esp]$ informa de cuánto más probable es que dicho resultado provenga de un control que de un paciente. La probabilidad clínica inicial (probabilidad preprueba [Ppre]), establecida heurísticamente por el médico (grado de sospecha clínica), se modifica (probabilidad postprueba [Ppost]) en función de la eficacia de la prueba diagnóstica de acuerdo con la function $Odds_{post} = CP \times Odds_{pre}$.

El término Odds es una forma de expresar la probabilidad (p) muy conveniente para determinados cálculos matemáticos. La conversión de probabilidad en Odds se realiza hallando el cociente $(p/1 - p)$; la conversión de Odds en probabilidad calculando el cociente $Odds/(1 + Odds)$.

Resultados

Se han estudiado 34 sujetos: 12 diagnosticados de narcolepsia y 22 controles sanos. La mediana de edad de la serie era de 33,36 años en pacientes y 33 en controles. El 68% de los casos eran hombres, distribuidos en 62% en pacientes y 73% en controles. La frecuencia de fumadores en el total de la serie, entre casos y controles, era de 26, de 23 y de 31%, respectivamente. Para más detalles, consultar las [tablas 1 y 2](#).

El grado de acuerdo ajustado por el azar (índice Kappa) entre los 2 perros detectores fue de 0,94 (IC 95%, 0,83-1,00).

Las características diagnósticas operacionales básicas obtenidas en el experimento (IC 95%) son: sensibilidad 0,92 (0,72-1,00), especificidad: 0,86 (0,70-1,00), VPP+: 0,79 (0,54-1,00) y VPN- 0,95 (0,83-1,00). El área bajo la curva ROC (*receiving operator characteristic curve*) es 0,89 (IC 95%, 0,78-0,99). El cociente de probabilidad de un test positivo es 6,72 (2,32-19,51) y el de un test negativo 0,10 (0,01-0,63). En la [tabla 3](#) se presenta un análisis de sensibilidad de las probabilidades postprueba obtenidas para resultados positivos y negativos del test en diferentes situaciones de sospecha clínica (probabilidad preprueba). La primera línea muestra la prevalencia poblacional estimada de narcolepsia en la población europea⁴.

Si el resultado de la prueba es positivo, las estimaciones iniciales sobre la probabilidad de que el paciente observado tenga en efecto una narcolepsia aumentan hasta 0,3, 0,7, 6,4, 24,6, 26,1, 42,7 y 62,7%, respectivamente. Si la prueba es negativa disminuyen hasta 0, 0, 0,1, 0,5, 1,1, y 2,4%, respectivamente.

Discusión

Los resultados obtenidos en el estudio muestran que los pacientes con narcolepsia desprenden un olor específico que puede ser detectado por animales de alta capacidad olfatoria debidamente entrenados.

Los valores puntuales de los índices diagnósticos son altos, aunque por el limitado tamaño muestral se observan intervalos de confianza amplios. Los resultados del estudio informan de una alta capacidad predictiva del test,

Tabla 1 Distribución de la variable edad entre pacientes y controles

Diagnóstico	Distribución por edad								n	Perdidos
	Media	DE	Mínima	Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75	Máxima			
Controles	29,50	9,60	0,42	31,00	32,50	34,00	36,00		22	0
Narcolépticos	44,42	22,01	18,00	26,50	40,00	59,50	84,00		12	0

Tabla 2 Distribución de la variable género entre pacientes y controles

Diagnóstico	Distribución por género		Total
	Mujeres	Varones	
Frecuencia			
Porcentaje			
Porcentaje de renglón-Porcentaje de columna			
Controles	6	16	22
	17,65	47,06	64,71
	27,27	72,73	
	60,00	66,67	
Narcolépticos	4	8	12
	11,76	23,53	35,29
	33,33	66,67	
	40,00	33,33	
Total	10	24	34
	29,41	70,59	100,00

Tabla 3 Análisis de sensibilidad de las probabilidades post-prueba

Ppre. Proporción (%)	Test	Ppost (%)	Test	Ppost (%)
0,0005 (0,05)	+	0,3	-	0,0
0,001 (0,01)	+	0,7	-	0,0
0,01 (1,00)	+	6,4	-	0,1
0,05 (5,00)	+	26,1	-	0,5
0,1 (10,0)	+	42,7	-	1,1
0,2 (20,0)	+	62,7	-	2,4

Ppost: probabilidad post-prueba; Ppre: probabilidad pre-prueba; Test: resultado del test.

particularmente si el resultado es negativo. Cuando la detección por el olor es negativa, la probabilidad de que el paciente tenga narcolepsia baja a valores clínicamente irrelevantes. Cuando la detección por el olor es positiva la probabilidad de que el paciente tenga narcolepsia aumenta, pero no hasta niveles clínicamente suficientes, por lo que el diagnóstico debería confirmarse por otros medios, conforme a criterios *gold standard*.

De los 22 controles sanos hay 3 casos detectados como falsos positivos para narcolepsia. Reevaluados clínicamente y mediante polisomnografía se descartó narcolepsia. Este falso positivo podría ser debido a contaminación en el manejo de las muestras o a una situación fisiológica o patológica de dichos controles que en este momento desconocemos.

En la práctica clínica, conseguir perros bien entrenados para dar un diagnóstico a una patología concreta basada en su capacidad olfatoria no es fácil dado el tiempo que se consume para el entrenamiento con cada perro en un determinado olor. En el estudio se pone de manifiesto la gran concordancia para la detección de un olor específico entre los 2 perros, demostrándose su excelente capacidad para un entrenamiento dirigido, aunque su duración en el tiempo, lógicamente, es limitada por su condición biológica. Por todo ello es necesario desarrollar un método para identificar los compuestos orgánicos volátiles (VOC) específicos derivados del paciente narcoléptico, por medio de sensores electrónicos que puedan suplir la habilidad de los perros^{29,30}. Una vez identificado por análisis químico los VOC de la narcolepsia habría que compararlos con la detección de los perros.

Las fortalezas del estudio residen en que se trata de un diseño prospectivo con recogida consecutiva de casos, en que el diagnóstico de narcolepsia se realiza de acuerdo con los estándares clínicos actuales y es reproducible, y en que el test problema es también altamente reproducible, puesto que ambos perros se comportan de manera similar en su capacidad discriminativa. Los pacientes han sido reclutados en la práctica clínica habitual y expresan el espectro completo de la enfermedad tal como se ve en una consulta de medicina del sueño. Se descarta el sesgo de verificación diagnóstica, puesto que el diagnóstico de enfermedad es previo a la realización de la prueba problema (detección por el olor). A nuestro juicio hay una debilidad relativa en el estudio basada en el tamaño muestral, y futuros estudios con muestras más amplias de pacientes narcolépticos ayudarán a determinar la fuerza de los actuales resultados.

La utilidad diagnóstica del test sería de importancia en el diagnóstico diferencial inicial en el estudio de las hipersomnias, ya que su negatividad evitaría estudios más costosos. Sería importante como medio de cribado para estudio de poblaciones o grupos donde fuera necesario el cribado de narcolepsia. Interesante es su aplicación sobre profesiones en las que la hipersomnia podría ser peligrosa, como conductores, pilotos y profesiones de riesgo. Puede ser un medio útil para el diagnóstico diferencial de la narcolepsia con otras patologías relacionadas con el sueño, como por ejemplo la distrofia miotónica tipo I (enfermedad de Steinert)^{31,32}. Los datos empíricos obtenidos apoyan la hipótesis del que el test del olor podría utilizarse como cribado en individuos o grupos con sospecha de narcolepsia o hipersomnia siempre que la accesibilidad al test y el coste lo permitieran, siendo necesario revalidar esta hipótesis con estudios ulteriores.

En resumen, el diagnóstico con los test del olfato es un método útil para diagnosticar la narcolepsia y abre un nuevo futuro a la investigación de la enfermedad con la utilización de los VOC. Esta técnica diagnóstica disminuiría los costes y

ayudaría a seleccionar mejor a los pacientes que deben ser estudiados con pruebas más complejas y sería un medio útil como cribado para el estudio de narcolepsia en poblaciones de riesgo. Estos hallazgos iniciales pueden abrir el camino para desarrollar nuevos y más amplios estudios que mejoren el conocimiento de la narcolepsia.

Financiación

No hay patrocinio de la industria.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a la Guardia Civil en general, y al Servicio Cinológico en particular, su contribución en el adiestramiento de los perros y en el test de detección canina de todas las muestras remitidas. Sin su contribución este trabajo no hubiera sido posible.

Bibliografía

- Guilleminault C, Cao MT. Narcolepsy: Diagnosis and Management. En: Kryger MH, Roth T, Dement WC, editores. Principles and Practice of Sleep Medicine. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2011. p. 957–68.
- Lin L, Faracto J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X, et al. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell*. 1999;98:365–76.
- Nishino S, Ripley B, Overeem S, Lammers GJ, Mignot E. Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet*. 2000;355:39–40.
- Ohayon MM, Priest RG, Zulley J, Smirne S, Paiva T. Prevalence of narcolepsy symptomatology and diagnosis in the European general population. *Neurology*. 2002;58:1826–33.
- Stalh SM, Layzer RB, Aminoff MJ, Townsend JJ, Feldon S. Continuous cataplexy in a patient with a midbrain tumor: The limp man syndrome. *Neurology*. 1980;30:1115–9.
- Schoenhuber R, Angiari P, Peserico L. Narcolepsy symptomatic of a pontine glioma. *Ital J Neurol Sci*. 1981;2:379–80.
- Dominguez-Ortega L, Salin-Pascual RJ, Díaz-Gállego E. Narcolepsy-like symptoms in a patient with Down syndrome and without obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2003;26:1–2.
- Porter R. The early years. En: Porter R, editor. The Greatest Benefit to Mankind: A Medical History of Humanity from Antiquity to the Present. London: Harper Collins; 1977. p. 147–62.
- Adams F. Hippocratic writings: Aphorisms IV, V. En: Stevenson DC, editor. The Internet Classic Archive. New York, NY: Web Atomics; 1994. p. 1–10.
- Liebig J, Woehler F. Veber die bildung des bittermandeloels. *Ann Pharm*. 1837;22:1.
- Koch R. Investigations into bacteria: V. The etiology of antrax, based on the ontogenesis of *Bacillus anthracis*. Cohn, Beitr Biol Pfl. 1876;2:277–310.
- Omeliński VL. Aroma producing microorganisms. *J Bacteriol*. 1923;8:393–419.
- Smith M, Smith LG, Levinson B. The use of smell in differential diagnosis. *Lancet*. 1982;2:1452–3.
- Fitzgerald FT, Tierney Jr LM. The bedside Sherlock Holmes. *West J Med*. 1982;137:169–75.
- Kandel E, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of Neural Science. 4th ed. New York: Mc Graw Hill; 2000.
- Axel R. Scents and Sensibility: A molecular logic of olfactory perception. (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*. 2005;44:6110–27.
- Davies T, Hayward NJ. Volatile products from acetylcholine as markers in the rapid urine test using head-space gas-liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1984;307:11–21.
- Lesniak A, Wolczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K. Canine olfactory receptor gene polymorphism and its relation to odor detection performance by sniffer dogs. *J Hered*. 2008;99:518–27.
- Williams M, Johnston JM. Training and maintaining the performance of dogs on an increasing number of other discriminations in a controlled setting. *Appl Anim Behav Sci*. 2002;78:55–65.
- Buck LB. The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell*. 2000;100:611–8.
- Lit L, Schweitzer JB, Oberbauer AM. Handler beliefs affect scent detection dog outcomes. *Anim Cogn*. 2011;14:387–94.
- Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in the melanoma clinic? *Lancet*. 1989;1:734.
- Mc Culloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K, Janecki T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early and late-stage lung and breast cancer. *Integr Cancer Ther*. 2006;5:1–10.
- Horvath G, Jarverud GA, Jarverud S, Horvath I. Human ovarian carcinomas detected by specific odor. *Integr Cancer Ther*. 2008;7:76–80.
- Sonoda H, Kohnoe S, Yamazato T, Satoh Y, Marixono G, Shikata K, et al. Colorectal cancer screening with odour materials by canine scent detection. *Gut*. 2011;60:814–9.
- Moser E, McCulloch M. Canine scent detection of human cancers: A review of methods and accuracy. *J Vet Behav*. 2010;5:145–52.
- American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders (ICSD-2). Diagnostic and coding manual. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2005.
- Dirección General de la Policía y de la Guardia Civil-Ámbito Guardia Civil. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado. Disponible en: <http://publicacionesoficiales.boe.es/>. NIPO (edición impresa): 126-11-017-7, NIPO (edición digital):126-11-018-2. Edita: Secretaría General Técnica del Ministerio del Interior.
- Wilson AD, Baietto M. Advances in electronic nose technologies developed for biomedical applications. *Sensors*. 2011;11:1105–76.
- Shirasu M, Touhara K. The scent of disease: Volatile organic compounds of human body related to disease and disorder. *J Biochem*. 2011;150:257–66.
- Ciafaloni E, Mignot E, Sansone V, Hilbert JE, Lin L, Lin X, et al. The hypocretin neurotransmission system in myotonic dystrophy type 1. *Neurology*. 2008;70:226–30.
- Romigi A, Izzi F, Pisani V, Placidi F, Pisani LR, Marciani MG, et al. Sleep disorders in adult-onset myotonic dystrophy type 1: a controlled polysomnographic study. *Eur J Neurol*. 2011;18:1139–45.